AUS DEM MEDIZINISCHEN INSTITUT FÜR UMWELT–
HYGIENE AN DER UNIVERSITÄT DÜSSELDORF
(DIREKTOR: PROF. DR. MED. H.–W. SCHLIPKÖTER)

ZUR WIRKUNG VON BLEICHLORID, SCHWEFELDIOXID UND STICKSTOFFDIOXID EINZELN UND IN KOMBINATION AUF DIE INFEKTIONSRESISTENZ BEI MÄUSEN

DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von
HERMANN–JOSEF STELL
ERIKA DUX

1980

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543910_0047

AUS DEM MEDIZINISCHEN INSTITUT FÜR UMWELT–
HYGIENE AN DER UNIVERSITÄT DÜSSELDORF
(DIREKTOR: PROF. DR. MED. H.–W. SCHLIPKÖTER)

ZUR WIRKUNG VON BLEICHLORID, SCHWEFELDIOXID UND STICKSTOFFDIOXID EINZELN UND IN KOMBINATION AUF DIE INFEKTIONSRESISTENZ BEI MÄUSEN

DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf

vorgelegt von
HERMANN–JOSEF STELL
ERIKA DUX

1980

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

Der Dekan
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

gez. Prof. Dr. Krüskemper

Referent
gez. Prof. Dr. Schlipköter

Korreferent
gez. Priv. Doz. Dr. Peters

Inhaltsverzeichnis

Seite

I. Einleitung 1

1.) Faktoren, die die Wirkung von Schadstoffen beeinflussen 3

a) Konzentration und Expositionsdauer 3
b) Teilchengröße 3
c) Löslichkeit 4
d) Kombination mit anderen Schadstoffen 5

2.) Entstehung, Vorkommen und Toxizität der untersuchten Luftverunreinigungen 5

a) NO_2 5
b) SO_2 6
c) Blei 7

3.) Die Rolle der Lunge bei der Inhalation von Schadstoffen 8

4.) Bemerkungen zum Begriff "Resistenz" 13

5.) Ziel der vorliegenden Untersuchung 13

Seit

II. Experimenteller Teil 16

1.) Material und Methode 16

2.) Statistische Auswertung 22

III. Durchführung 25

IV. Diskussion 50

V. Zusammenfassung 60

VI. Literaturverzeichnis 62

I. Einleitung

Die fortschreitende Industrialisierung und die damit verbundene größere Umweltbelastung mit Schadstoffen, insbesondere die zunehmende Verunreinigung der Luft, stellt für den Menschen eine immer größer werdende gesundheitliche Gefährdung dar. Dieses Problem betrifft nicht nur Einzelpersonen, sondern die gesamte Bevölkerung.

Es ist bekannt, daß aus der Luft oder mit der Nahrung aufgenommene Schadstoffe in hohen Konzentrationen toxische Wirkungen auf den menschlichen Organismus haben können. Akute oder chronische Vergiftungserscheinungen, wie z.B. durch Blei, sind hinlänglich bekannt und in der medizinischen Fachliteratur ausführlich beschrieben worden. Es ist vorstellbar, daß Schadstoffe in nicht toxischen Konzentrationen allgemeine Krankheitssymptome wie Kopfschmerzen, Übelkeit etc. verursachen können, die ihnen aber ätiologisch nur schwer zuzuordnen sind, weil für eine solche Symptomatik auch viele andere Faktoren verantwortlich sein können. Einzelne Wirkungen bestimmten Schadstoffen zuzuordnen wird zusätzlich dadurch erschwert, daß in der Atmosphäre luftverunreinigende Substanzen nicht einzeln, sondern in Gemischen von Stäuben, Gasen, Dämpfen und Schwebestoffen vorliegen, die sich in ihrer Wirkung gegenseitig beeinflussen können.

Es könnte auch so sein, daß Schadstoffe in geringen Konzentrationen nicht unbedingt zu erkennbaren Krankheitszeichen führen, aber dennoch schädigend auf den

menschlichen Organismus einwirken. Eine solche Schädigung könnte sich z.B. im zellulären Bereich abspielen und etwa erst nach Hinzutreten weiterer Noxen - wie andere Schadstoffe, Bakterien, Viren etc. - eine pathologische Bedeutung erlangen. Diese Überlegung bedeutet für den Respirationstrakt, über den ja in der Luft vorkommende Stoffe hauptsächlich mit dem Organismus in Berührung kommen: auch geringe Schadstoffkonzentrationen könnten zelluläre Strukturen der Lunge so vorschädigen, daß bei Inhalation infizierter Luft der pulmonale Abwehrmechanismus versagt. Eine funktionierende pulmonale Abwehr ist aber notwendig, um die Lunge selbst sowie den ganzen Organismus vor Infektionen zu schützen.

Um bestimmte Schadstoffe auf ihre mögliche Beeinträchtigung der Infektionsresistenz hin prüfen zu können, sind Tierversuche notwendig. So lassen sich unter definierten und reproduzierbaren Bedingungen u.a. Reaktionen des Organismus histologisch untersuchen.

1.) Faktoren, die die Wirkung von Schadstoffen beeinflussen

Die Wirkung von Schadstoffen auf den Organismus ist von verschiedenen Faktoren abhängig:

a) Konzentration und Expositionsdauer

Die Wirkung luftverunreinigender Substanzen korreliert mit Konzentration und Expositionsdauer. So beschreibt Goldstein (1973) für eine kurze NO_2-Exposition von 5 Stunden einen Schwellenwert von 7 ppm (13,4 mg/m³) bezüglich einer Verschlechterung der Bakterienelimination aus Mäuselungen, während bei Applikation von NO_2 über 17 Stunden eine signifikante Abnahme der Bakterienelimination bereits bei 2,3 ppm (4,4 mg/m³) erfolgt.
Coffin (1972) berichtet, daß bei zweistündiger Exposition mit 3,5 ppm NO_2 (6,7 mg/m³) die Mortalität nach Infektion mit Klebsiella pneumoniae signifikant anstieg. Nach dreimonatiger Exposition führten schon 0,5 ppm NO_2 (0,9 mg/m³) zum gleichen Ergebnis.

Diese Beispiele demonstrieren, daß Schadstoffkonzentrationen, die für akute Wirkungen nicht ausreichen, bei längerer Expositionsdauer durchaus Wirkung zeigen.

b) Teilchengröße

Partikel, die größer als 10 - 30 µm sind, werden in den oberen Atemwegen abgefangen. In den Bronchien

und Bronchiolen deponierte Teilchen werden durch die kontinuierliche Zilienbewegung des Flimmerepithels rachenwärts befördert und verschluckt oder ausgehustet.
Partikel, die kleiner als 5 µm sind, können mit der Atemluft in die tiefsten Abschnitte der Lunge gelangen, nämlich in die Bronchioli respiratorii und die Alveolen. Dort werden sie von Makrophagen aufgenommen und über die Bronchien eliminiert oder auf dem Lymphweg abtransportiert.(Dannenberg, 1977; Foord et al., 1976; Ganong, 1974; Morgan, 1975)

Amdur (1958) stellte fest, daß bei Meerschweinchen, die eine Stunde lang ein H_2SO_4-Aerosol mit unterschiedlichen Partikelgrößen inhalierten, u.a. der Atemwegwiderstand mit abnehmender Teilchengröße (2,5 µm; 0,8 µm) signifikant anstieg.

c) Löslichkeit

Ein Gas, das gut wasserlöslich ist, wie z.B. SO_2, wird im Flüssigkeitsfilm der Schleimhaut des Atemtraktes gelöst (Dannenberg 1977), während ein weniger gut wasserlösliches Gas, wie z.B. NO_2, in die tiefsten Lungenabschnitte gelangen kann (Schlipköter 1975). Außerdem besteht die Möglichkeit einer chemischen Reaktion. SO_2 z.B. wandelt sich durch den Kontakt mit der Schleimhaut zu schwefliger Säure um:

$$SO_2 + H_2O \rightleftharpoons H_2SO_3$$

(Lahmann 1969; WHO-Bericht 1975)

d) Kombination mit anderen Schadstoffen

Für die Wirkung von Schadstoffen ist ebenfalls wichtig, ob sie allein oder in Kombination vorkommen. So hat Amdur (1968) gezeigt, daß ein NaCl-Aerosol, das gleichzeitig mit SO_2 verabreicht wurde, den Effekt von SO_2 auf die Lungen von Meerschweinchen (Bronchokonstriktion; Erhöhung des Atemwegwiderstandes) verstärkt. Es wäre möglich, daß das NaCl als Carrier wirkte und SO_2 tief in die Lungen beförderte.
Ehrlich et al. (1977) fanden nach einer kombinierten Applikation von No_2 + Ozon bei Mäusen, die mit Streptokokken infiziert wurden, eine erhöhte Mortalitätsrate. Bei einzelner Verabreichung von NO_2 bzw. Ozon in gleichen Konzentrationen trat diese Wirkung nicht auf.

2.) Entstehung, Vorkommen und Toxizität der untersuchten Luftverunreinigungen

a) NO_2

Nitrose Gase entstehen hauptsächlich bei der Verbrennung sowie bei der Herstellung und Verarbeitung von Salpetersäure. Dabei wird primär NO emittiert, das mit dem Luftsauerstoff zu NO_2 reagiert:

$$2\ NO + O_2 \rightleftharpoons 2\ NO_2$$

NO_2 ist ein Reizgas, das vor allem auf die tieferen Abschnitte des Respirationstraktes wirkt. Die gefährlichste Wirkung ist eine Schädigung der Lunge mit nachfolgender Ödembildung.

Konzentrationsmessungen an verkehrsreichen Straßen ergaben im Durchschnitt 0,2 mg/m³ NO_2 (0,1 ppm). (Lufthygiene und Silikoseforschung 1975, Bd. 8)

Die VDI-Kommission Reinhaltung der Luft legt eine Liste Maximaler Immissions-Konzentrationen (MIK-Werte) vor (VDI-Richtlinien: Maximale Immissionswerte VDI 2310, 1974), die "darauf abzielen, eine Gesundheitsschädigung des Menschen, insbesondere auch von Kindern, Alten und Kranken, selbst bei langfristiger Einwirkung zu vermeiden und einen Schutz vor Schädigungen von Tieren, Pflanzen und Sachgütern zu gewährleisten."

Diese MIK-Werte betragen für NO_2:

0,2 mg/m³ (0,1 ppm) Mittelwert über 1/2 Stunde

0,1 mg/m³ (0,05 ppm) Mittelwert über 24 Stunden (Lahmann 1969; Lufthygiene und Silikoseforschung 1975, Bd. 8; VDI-Richtlinien: Maximale Immissionswerte VDI 2310, 1974)

b) SO_2

Der größte Teil des Schwefeldioxids in der Atmosphäre stammt aus den Abgasen von Feuerungsanlagen. Fast alle Brennstoffe enthalten Schwefel, der bei der Verbrennung in SO_2 übergeht.
Da SO_2 gut wasserlöslich ist, bildet sich durch die Anfeuchtung der Luft in Nase, Hals und oberen Luftwegen bei der Einatmung und durch die Feuchtigkeit der Schleimhautoberfläche schweflige Säure:

$$H_2O + SO_2 \rightleftharpoons H_2SO_3$$

Die starke Reizwirkung führt zu Schutzreflexen wie Husten und Konstriktion von Larynx und Bronchien. (Lahmann 1969; Lufthygiene und Silikoseforschung 1975, Bd. 8; Moeschlin 1959)
Konzentrationsmessungen in deutschen Innenstädten ergaben im Durchschnitt 0,26 mg/m³ (0,09 ppm) SO_2. (Lahmann 1969)
Die MIK-Werte für SO_2 betragen:
1 mg/m³ (0,38 ppm) Mittelwert über 1/2 Stunde
0,3 mg/m³ (0,11 ppm) Mittelwert über 24 Stunden
0,1 mg/m³ (0,04 ppm) Mittelwert über 1 Jahr
(VDI-Richtlinien 2310, 1974)

c) Blei

Der größte Teil des Bleis in der Atmosphäre stammt aus den Autoabgasen. Es wird als Antiklopfmittel dem Benzin zugesetzt (lt. Benzinbleigesetz ab 1. 1. 1976 max. 0,15 g/l Benzin) und kommt in der Atmosphäre als Bleioxid, Bleibromid und Bleichlorid vor. Die Verbrennungsprodukte des Bleis erscheinen in den Auspuffgasen als schwebende Bleipartikel (mittlere Größe 0,25 µm). Die kleinsten Partikel verhalten sich wie Gase und werden durch Luftströmungen in der Atmosphäre verteilt. (Lufthygiene und Silikoseforschung 1975, Bd. 8). Blei ist somit Bestandteil des lungengängigen Schwebestaubes, aber auch in Nahrungsmitteln enthalten. Nach der Resorption aus Darm oder Lunge wird Blei zu 90 % an Hämoglobin gebunden und schließlich in den Organen abgelagert.

Die akute Bleivergiftung mit Gastroenterokolitis, Koliken, Atemstörungen, hypochromen Anämien und

Nierenschädigung (Fanconi-Syndrom) ist sehr viel seltener als die chronische Bleivergiftung, die in der Inneren Medizin als Saturnismus bezeichnet wird. Dieses Krankheitsbild geht einher mit typischen vegetativen Symptomen: Schläfenkopfschmerz, Schwindel, Schwäche, Appetitlosigkeit, Stuhlverstopfung, Magenbeschwerden und Brechreiz.
Kardinalsymptome sind Tüpfelzellen (basophil getüpfelte Erythrocyten), Porphyrinurie, zuerst Hämoglobinanstieg, dann Anämie. Weitere Folgen sind vorübergehende Leberschädigung und Bleilähmung (motorische Polyneuropathie). Der Zusammenhang mit Blei ist bei anderen Symptomen wie Enzephalopathie und Schrumpfniere umstritten. (Gross, Schölmerich 1977; Moeschlin 1959).
In Wohngebieten von Großstädten betrug die Bleikonzentration im Tagesmittel 8 $\mu g/m^3$. (Lufthygiene und Silikoseforschung 1975, Bd. 8)

Die MIK-Werte betragen für Blei:

0,003 mg/m^3 Mittelwert über 24 Stunden
0,0015 mg/m^3 Mittelwert über 1 Jahr

(VDI-Richtlinien: Maximale Immissionswerte VDI 2310, 1974)

3.) Die Rolle der Lunge bei der Inhalation von Schadstoffen

Bei der Wirkung luftverunreinigender Stoffe spielt der Respirationstrakt eine zentrale Rolle:

Schadstoffe können direkt durch die Schleimhaut der Luftwege absorbiert werden (die Resorption durch die Lunge beträgt ca. 90 %) oder aber über den Mukoziliartransport in den Rachen gelangen, verschluckt werden und dann gastrointestinal resorbiert werden. In beiden Fällen können sie dann systemisch wirken.
Andererseits ist es auch möglich, daß der Respirationstrakt selbst durch lokale toxische Wirkung von Schadstoffen geschädigt wird.
Im Lungengewebe können verschiedene zelluläre Strukturen Angriffspunkte für Schadstoffe sein.

a) Zelluläre Strukturen des Respirationstraktes als mögliche Angriffspunkte luftverunreinigender Substanzen

Die oberen Atemwege sind mit Schleimhaut ausgekleidet, in der sich mehrstufiges Flimmerepithel und Becherzellen befinden. Zu einer Flimmerepithelzelle gehören etwa 200 Zilien (Länge 3 µm - 6 µm), deren peitschenartige Bewegungen koordiniert rachenwärts gerichtet sind. Der Schleim, der von den Becherzellen produziert wird, hat eine Schichtdicke von ca. 5 µm. (Gross, Schölmerich 1977; Leonhardt 1974)
Die Aufgabe dieses Mukoziliarsystems besteht darin, die im Schleim vorhandenen Zelltrümmer, Makrophagen, inhalierte Partikel etc. durch kontinuierlichen Zilienschlag aus den Atemwegen herauszubefördern (12 - 15 mm/min.).
Beeinträchtigungen durch Schadstoffeinflüsse können die Funktion des Flimmerepithels betreffen. Bei toxischen Wirkungen kann ein Verlust der Zilien auftreten oder bei Eingriff in den Energiestoffwechsel

der Zelle kann eine Verminderung der Zilienschlagkraft resultieren.
Beides hätte einen Funktionsausfall zur Folge, so daß ein Schleimtransport nicht mehr genügend gewährleistet wäre.
Bei Schädigung der Becherzellen könnte es zu einer Verminderung der Schleimproduktion kommen oder sich etwa die Schleimzusammensetzung ändern, so daß das Zusammenspiel mit der Zilientätigkeit gestört würde.

In den tiefen Lungenabschnitten, dem Bereich der Alveolen, kann man histologisch mehrere Zelltypen unterscheiden.
Die Alveolen (Durchmesser 0,1 - 0,2 mm) sind von einem einschichtigen Epithel (Pneumocyten I) ausgekleidet, das sehr flach ist und stellenweise nur eine Dicke unter 0,1 µm hat. Die Diffusionsstrecke für den alveolären Gasaustausch (Basalmembran sowohl des Alveolarepithels als auch des Blutkapillarendothels) beträgt 0,3 µm - 1,8 µm. (Leonhardt 1974)
Läsionen im Bereich der Pneumocyten I können die Schranke zwischen Atemluft und Blutkreislauf zerstören.
Zwischen den Pneumocyten I kommen vereinzelt auch Pneumocyten II vor, die auch als Nischenzellen bezeichnet werden und größer und höher sind.
Pneumocyten II produzieren den surfactant factor (auch Antiatelektase-Faktor genannt), eine Phospholipidverbindung, die für die Herabsetzung der alveolären Oberflächenspannung verantwortlich ist. (Gross, Schölmerich 1977; Leonhardt 1974).
Die Aufrechterhaltung des normalen surfactant-Filmes auf der Alveolenoberfläche ist notwendig, um Atelektasen zu vermeiden.

Schädigende Einflüsse auf die Pneumocyten II mit Verminderung der Produktion von surfactant werden als Folge von Schadstoffeinwirkungen (z.B. Zigarettenrauch) diskutiert.
Verlust von surfactant wird als Ursache bei der Entstehung pulmonaler Infektionskrankheiten und der Bildung hyaliner Membranen vermutet. (Wichert 1971)

Alveolarmakrophagen

Im alveolären Bereich befinden sich neben den Pneumocyten auch Makrophagen, die als gewebeständige Histiocyten oder als mobile Alveolarmakrophagen vorkommen.
Alveolarmakrophagen haben eine Größe von 15 µm - 30 µm. Oren et al. (1968) fanden eine phagozytierende Aktivität von einem Monat. Dannenberg (1977) schreibt, daß sie trotz ihrer Differenzierung die Fähigkeit behalten, sich zu teilen und, falls erforderlich, können sie so ihre Population für mehrere Wochen aufrechterhalten, bis mit dem Blut junge Makrophagen aus dem Knochenmark eingeschwemmt werden.
Wahrscheinlich sind Monocyten die Vorläufer von Alveolarmakrophagen. (Bowden 1971) Sie stammen aus dem Knochenmark und gelangen über den Blutkreislauf in das Lungengewebe, wo sie sich teilen und reifen. Sie sind beweglich und gelangen aktiv in die Alveolen, wohin sie zur Phagozytose durch Chemotaxis gelockt werden.
Ihre Ultrastruktur zeigt ein schwach basophiles Zytoplasma mit Nucleus, zahlreichen Mitochondrien, reichlich Endoplasmatisches Retikulum und vielen Ribosomen. Außerdem kann das Zytoplasma Zelltrümmer, Bakterien

und verschiedene Abbauprodukte enthalten. Die Ultrastruktur ist abhängig von der Phase der zellulären Aktivität und von der Natur und Menge des phagozytierten Materials. Ihre Energie für die Phagozytose gewinnen Alveolarmakrophagen durch oxydative Phosphorylierung. Ihre Proteinsynthese dient hauptsächlich der Produktion von Verdauungsenzymen: Alveolarmakrophagen enthalten beträchtliche Mengen an saurer Phosphatase, Lysozymen und Lipase. Wenn sie aktiv werden, steigt diese Produktion noch an. Die Menge der Verdauungsenzyme ist im Herbst und Winter größer als im Frühling und Sommer. (Bowden 1971)

Goldstein et al. (1974) untersuchten die Phagozytosefähigkeit bei Ratten, die ein Staphylokokken-Aerosol inhaliert hatten. Dabei zeigte sich, daß 50 % der Bakterien, nachdem sie die Lunge erreicht hatten, bereits innerhalb der ersten Minuten phagozytiert wurden. Nach 2 1/2 Stunden waren 90 % der Bakterien phagozytiert. Dabei hatten 85 % der Alveolarmakrophagen 1, 2 oder 3 Bakterien inkorporiert.

Kim et al. (1976) machten ähnliche Versuche mit Mäusen und erhielten folgende Werte: Innerhalb der ersten Minuten wurden 38 % der Bakterien phagozytiert; nach einer Stunde waren es 64 %; nach 4 Stunden 76 % und nach 8 Stunden 91 %. Dabei hatten 59 % der Alveolarmakrophagen 1 Bakterium aufgenommen; 22,5 % 2 Bakterien und 10,4 % 3 Bakterien. 4 oder mehr Bakterien wurden von weniger als 10 % der Makrophagen aufgenommen.
Nach Kitzrow et al. (1976) hängt die Geschwindigkeit der Phagozytose von der Keimart ab; so werden z.B. bekapselte Bakterien wesentlich langsamer phagozytiert als unbekapselte.

Green und Kass (1967) berichten, daß Staphylococcus aureus nach 4 Stunden zu 85 % phagozytiert war, während von Staph. albus 99 % aufgenommen waren; von Proteus mirabilis waren nach 4 Stunden 50 % phagozytiert.

Phagozytose ist ein empfindlicher Mechanismus, der durch viele Faktoren (Hypoxie, Alkohol, Hunger, Cortison) gestört wird. (Green und Kass 1964)

Unter normalen Bedingungen ist das Lungenparenchym steril. Phagozytose durch Alveolarmakrophagen ist der Mechanismus, durch den diese Sterilität aufrechterhalten wird. (Green und Kass 1964)
Wenn durch toxische Substanzen die Anzahl der Alveolarmakrophagen reduziert oder ihre Phagozytosefähigkeit beeinträchtigt wird, ist die Selbstreinigung der Lunge nicht mehr gewährleistet.

4.) Bemerkungen zum Begriff "Resistenz"

Bei Untersuchungen von Schadstoffwirkungen auf die Infektionsresistenz muß man Eigenschaften des einwirkenden Schadstoffes sowie die Wirkung auf das Abwehrsystem berücksichtigen.
Es darf aber auch nicht außer Acht gelassen werden, daß Reaktionen auf irgendwelche Noxen interindividuell verschieden sind und eine große Variationsbreite aufweisen. Dieses Phänomen wird definiert als genetisch bedingter unspezifischer Schutz eines Organismus gegenüber Infektionen oder Giften. (Gross, Schölmerich 1977; Pschyrembel 1975)

Resistenz ist also nicht nur abhängig von der Zahl und der Funktionsfähigkeit der spezifischen Abwehrzellen, sondern auch von der Disposition eines Individuums, die beeinflußt wird von Ernährung, Temperaturveränderungen, psychische und physische Belastungen, Krankheiten, Lebensalter etc.. (Gross, Schölmerich 1977; Wiesmann 1974)

5.) Ziel der vorliegenden Untersuchung

Einflüsse der Luftverunreinigungen auf die Infektionsresistenz sind von zahlreichen Autoren mit verschiedenen Methoden untersucht worden.
So fanden Gardner et al. (1969) bei Kaninchen nach dreistündiger Exposition mit 10 ppm (19,1 mg/m³) NO_2 eine verminderte Phagozytose von Streptokokken.

Coffin (1972) schreibt, daß bei Mäusen nach zwei Stunden Exposition mit 3,5 ppm (6,7 mg/m³) NO_2 die Mortalitätsrate nach Infektion mit Klebsiella pneumoniae anstieg.
Goldstein (1973) bestätigt, daß bei Mäusen die Elimination von Staphylococcus aureus nach Inhalation von NO_2 verschlechtert war.
Schlipköter et al. (1977) fanden, daß bei Mäusen, die 81,8 µg Bleichlorid inhaliert hatten, bereits nach 24 Stunden Exposition die Elimination von Serratia marcescens signifikant verschlechtert war.
Bingham et al. (1972) beschreiben, daß nach kurzzeitiger Bleiinhalation (10 µg Bleiaerosol/m³) die Zahl der Alveolarmakrophagen bei Ratten reduziert war.

Ziel dieser Arbeit war es, zu untersuchen, ob beim Zusammenwirken von Blei, SO_2 und NO_2 im Bereich von MIK-Konzentrationen sich die Bakterienelimination verändert, ob sich auch bei der Kombination von Blei mit anderen Schadstoffen ein Effekt auf die Makrophagenanzahl zeigt, die durch Blei allein, wie Schlipköter et al. (1979), Beck et al. (1973) und Binham et al. (1968) gezeigt haben, reduziert wird, und ob die Phagozytosefähigkeit beeinflußt wird.

II. Experimenteller Teil

1.) Material und Methode

Als Versuchstiere dienten 320 weibliche Mäuse vom Stamm NMRI (1) mit einem Durchschnittsgewicht von 26,2 g bei Versuchsbeginn.
Die Mäuse wurden bei konstanter Temperatur (22° C ± 2° C) und konstanter Luftfeuchtigkeit (50 % ± 5 %) in Makrolonkäfigen zu je 15 Mäusen gehalten. Die Tiere wurden mit Altrominfutter^{R} und Wasser ad libitum ernährt.
Für die Untersuchungen wurden Gruppen von je 32 Mäusen gebildet und über 1 bis 4 Wochen wie folgt exponie

1. Versuch:

$PbCl_2$
$PbCl_2 + NO_2$
$PbCl_2 + SO_2$
Kontrolle

2. Versuch:

NO_2
SO_2
Kontrolle

3. Versuch:

$NO_2 + SO_2$
$PbCl_2 + NO_2 + SO_2$
Kontrolle

(1) Ivanovas, Kissleg

Die Tiere wurden jede Woche von Montag bis Freitag täglich 8 Stunden dem $PbCl_2$-Aerosol exponiert, während NO_2 und SO_2 an diesen 5 Tagen kontinuierlich verabreicht wurde. Die Tiere der Kontrollgruppe inhalierten über die gesamte Versuchsdauer gefilterte Luft.
In 1-wöchigen Abständen wurden von jeder Gruppe 8 Mäuse zur Bakterieninhalation entnommen.
Zur Schadstoffinhalation (Methode nach Schlipköter et al.) wurden die Mäuse in den Inhalationskammern in Drahtkäfigen mit einem allseitig offenen Metallgestell gehalten. Die Inhalationskammern bestanden aus rostfreiem V2a-Stahl (Kammerinhalt 5 m^3). Ein ölfrei arbeitender Kompressor (1) saugte zur Luftversorgung der Kammern Luft aus der Atmosphäre an und komprimierte sie nach Filterung auf einen Druck von 5 Atm.. Über ein Rohrsystem wurde diese Preßluft dann den Inhalationskammern zugeführt und dort mit den entsprechenden Schadstoffen vermischt. Durch einen Ventilator wurde das Schadstoff-Luft-Gemisch in der Kammer gleichmäßig verteilt. Die Luftmenge wurde über ein Ventil in Verbindung mit einem Strömungsmesser dosiert und pro Stunde einmal umgewälzt.

Das Bleiaerosol wurde mit einer Zweistoffdüse (2) erzeugt, der eine wäßrige Bleichloridlösung (Konzentration 65 mg $PbCl_2$/l Wasser) mit einem Dauerinfusionsgerät (3) zugeführt wurde. Die durch die zweite Düsenöffnung eintretende Preßluft vernebelte diese Lösung zu einem feinen Aerosol.
Die Bleikonzentration in der Inhalationskammer wurde gemessen, indem die Luft aus der Inhalationskammer

(1) Fa. Neumann & Esser, Aachen
(2) Fa. Gustav Schlick, Coburg
(3) Fa. Braun, Melsungen

über ein waagerecht liegendes Rohr (lichte Weite 18 mm) mit einer Luftgeschwindigkeit von 0,6 - 0,7 m/s abgesaugt wurde. In dem Absaugrohr befand sich ein Membranfilter (1) mit einer Filterfläche von 3,8 cm^2 und einer Porengröße von 0,6 µ. Die groben Teilchen wurden so von der Messung ausgeschlossen.
Die Bleikonzentration wurde durch nasse Veraschung des Membranfilters mit Schwefelsäure-Wasserstoffperoxid und anschließender Atomabsorptionsspektrometrie bestimmt.
Kontrollmessungen erfolgten 2 x täglich und ergaben eine mittlere $PbCl_2$-Konzentration von 18,38 $\mu g/m^3$.

NO_2 und SO_2 wurden mit Hilfe eines Reduzierventils Gasflaschen (2) entnommen. Da gasförmiges NO_2 unter 22° C kondensiert, wurden die NO_2-Konzentrationen mit einer Dosierpumpe (3) in einem für 30° C temperaturkonstantem Behälter eingestellt und mit Acudurschläuchen (4) in die Inhalationskammern geleitet. Die NO_2-Temperatur blieb so über 22° C.
Die Konzentration wurde mit einem in der Inhalationskammer befindlichen Analysator zur kontinuierlichen Registrierung der NO_2-Konzentration gemessen (Meßprinzip Chemoluminiszenz) (5).
Die Dosierung von SO_2 erfolgte ebenfalls mit der o.g. Dosierpumpe; die Konzentration in der Inhalationskammer wurde mit einem kontinuierlich anzeigendem Gasanalysegerät (6) gemessen.
Die mittlere registrierte Konzentration betrug:

bei NO_2 0,315 mg/m^3 (0,1647 ppm)
bei SO_2 0,335 mg/m^3 (0,1257 ppm).

(1) Fa. Sartorius, Göttingen
(2) Fa. Messer-Griesheim, Duisburg
(3) Fa. Telab, Duisburg
(4) Fa. Acudur, Mülheim/Ruhr
(5) Fa. UPK, Bad Nauheim
(6) Fa. Wösthoff o.H.G., Bochum

Für die Bakterieninhalation verwendeten wir einen apathogenen Laborstamm von Serratia marcescens, der nach 18-stündiger Bebrütung auf Traubenzuckerplatten mit einer NaCl-Pepton-Lösung (0,9 % NaCl + 0,1 % bakteriologisches Pepton (1), pH 7) abgeschwemmt wurde.
Zur Fluoreszenzmarkierung der Bakterien in dieser Lösung wurde Fluoresceinisothiocyanat (FITC) (2) im Überschuß zugegeben und anschließend in einem verschlossenem Glasgefäß 1 Stunde bei 37° C im Wasserbad inkubiert. Dann wurde die Suspension für 90 min. bei 10.000 x g zentrifugiert und der Überstand verworfen. Das Sediment wurde mit 100 ml NaCl-Pepton-Lösung gewaschen und nach Zentrifugation mit NaCl-Pepton-Lösung pH 9 auf 60 ml aufgefüllt.
Zur Keimzahlbestimmung wurde eine Verdünnungsreihe in physiologischer Kochsalzlösung hergestellt und im Doppelansatz die Kolonien nach 48-stündiger Bebrütung bei 37° C ausgezählt.
Die mittlere Keimzahl betrug 6×10^8/ml.

Nach 1-, 2-, 3- und 4-wöchiger Schadstoffinhalation wurden jeweils 8 Mäuse der entsprechenden Gruppen zufällig ausgewählt und gekennzeichnet. Die Gruppen waren mit einem den Untersuchern unbekannten Code versehen.
Der Drahtkäfig, in den die Mäuse nach Randomisierung einzeln gesetzt wurden, war allseitig offen und in 5 x 5 x 4 cm³ große, nebeneinanderliegenden Einzeldrahtboxen aufgeteilt. In diesem Käfig wurden die Tiere in einer Inhalationskammer 1 Stunde lang dem Bakterienaerosol ausgesetzt. Die Inhalationskammer bestand aus Plexiglas (Größe 60 x 40 x 30 cm) und

(1) Fa. Oxoid, London
(2) Fa. Serva, Heidelberg

war mit einer Zweistoffdüse (1) versehen, der von außen mittels einer Schlauchpumpe (2) (Förderleistung 1 ml/min) die Bakteriensuspension zugeführt wurde. Mit gleichzeitig über die zweite Düsenöffnung zugeleiteter nachgereinigter Preßluft (5-6 bar) wurde die Bakteriensuspension gleichmäßig in der Inhalationskammer versprüht. Über eine bodennahe Absaugpumpe wurde die kontaminierte Luft nach außen geleitet.

4 Stunden nach Bakterieninhalation wurden die Mäuse aus der Inhalationskammer genommen und einzeln gewogen. Nach Narkotisierung mit 0,1 ml Nembutal^{R} (3) i.p. wurde der Brustkorb eröffnet und der linke Lungenunterflügel herauspräpariert. Die Lungenflügel wurden nach der Entnahme mit Kohlensäure auf Messingzylinder schockgefroren und bei -70° C aufbewahrt.

Außerdem entnahmen wir mit einer Mikropipette aus den Herzen 20 µl Blut zur Bestimmung von Hämoglobin, Leukozytenzahl und Erythrozytenzahl (4).

Zur mikroskopischen Auszählung fertigten wir von jeder Lunge 15 Gewebeschnitte (Schichtdicke 10 µm) mit dem Gefriermikrotom (5) an und lagerten sie auf Objektträgern bis zur Auswertung bei -30° C.

Nach Auftauen und Überschichtung mit Immersionsöl (DIN 58884) wurden die Lungenschnitte mit Hilfe des Auflichtfluoreszenzverfahrens (Leitz-Fluoreszenz-Opak nach Ploem) ausgewertet.

Dabei wurde jeder Gewebeschnitt in 30 Einstellungen mäanderförmig durchgemustert.

Insgesamt wurden so 96.000 Einzeleinstellungen ausgewertet. Um jeweils gleichgroße Flächen der Lungenschnitte auszählen zu können, befand sich im Okular eine Strichplatte (10 mm x 10 mm).

(1) Fa. Schlick, Coburg
(2) Fa. Verder, Düsseldorf
(3) Fa. Abbott GmbH, Ingelheim/Rhein
(4) Fa. Molter GmbH, Heidelberg
(5) Fa. Slee, Mainz

Es wurden ausgezählt:

1.) freie, fluoreszierende Bakterien im Lungengewebe

2.) Alveolarmakrophagen, in denen sich keine fluoreszierenden Bakterien befanden,

3.) Alveolarmakrophagen, die fluoreszierende Bakterien phagozytiert hatten.

Nicht phagozytierte Bakterien, die in Agglomeraten zusammengelagert waren, wurden nicht berücksichtigt.

Zur Auszählung benutzten wir das Großfeldmikroskop Orthoplan (1) mit folgender Ausstattung:

Objektiv : Öl 63/1,30
Okular : GW 8x; Tubusfaktor 1,56
Lampe : Xenon 75 W
Filter : Leitz-System K 2, bestehend aus:
1.) Anregungsfilter BP 470-490 nm
2.) Teilerspiegel RKP 510
3.) Sperrfilter LP 515
Vergrößerung: 516-fach (63 x 1, 56 x 8)

(1) Fa. Leitz, Wetzlar

2.) Statistische Auswertung und Ergebnisse

Die Ergebnisse der drei Versuche sind in den Abbildungen und Tabellen 1 - 9 dargestellt.

Beim Vergleich aller Kontrollgruppenmittelwerte untereinander fällt auf, daß diese sich zum Teil erheblich voneinander unterscheiden.
Einflüsse auf den Versuchsablauf, die diese Schwankungen hervorgerufen haben könnten, waren mit der vorgegebenen Methode weder qualitativ noch quantitativ zu erfassen.
Man kann aber davon ausgehen, daß Kontrolltiere und Versuchstiere von diesen Einflüssen additiv betroffen wurden.
Um die wöchentlichen Einzelergebnisse miteinander vergleichen zu können und darzustellen, wurde eine Standardisierung vorgenommen. Dazu wurden die bei den Kontrolltieren gefundenen mittleren Bakterienzahlen pro Flächeneinheit sowie die entsprechenden Zahlen der freien Alveolarmakrophagen und phagozytierenden Alveolarmakrophagen gleich 100 gesetzt. Die entsprechenden Parameter bei den schadstoffexponierten Tieren sind jeweils in Prozent des Kontrollwertes angegeben. Dadurch ergibt sich ein unverfälschtes und zwischen den drei Versuchsgruppen zu vergleichendes Bild der jeweiligen Verlaufsunterschiede zur Kontrolle.
Vor der Errechnung von Mittelwerten und der Anwendung statistischer Tests wurden Ausreißertests durchgeführt. Dabei wurde ein Wert als Ausreißer angesehen, wenn er außerhalb des Intervalls $\pm$ 3 s Streuung lag.

Mit der mehrfachen Varianzanalyse wurde geprüft:

a) der Einfluß der Expositionszeit auf die Bakterienanzahl (bzw. Makrophagenanzahl; Anzahl der phagozytierenden Makrophagen) der verschiedenen Schadstoffgruppen während der gesamten Versuchsdauer;

b) der Einfluß der Schadstoffe auf die Bakterienanzahl (bzw. Makrophagenanzahl; Anzahl der phagozytierenden Makrophagen) der entsprechenden Gruppe über die gesamte Versuchsdauer;

c) die Wechselwirkung zwischen a) und b) auf die Bakterienanzahl (bzw. Makrophagenanzahl; Anzahl der phagozytierenden Makrophagen) der entsprechenden Schadstoffgruppe.

Die mehrfache Varianzanalyse wurde mit den Differenzwerten durchgeführt. Die Voraussetzung der Varianzhomogenität (Bartlett-Test, $p < 0,01$) war nicht immer erfüllt. Dies ist im Einzelfall angegeben.

Mit dem t-Test wurde geprüft:

a) die Unterschiede der einzelnen Schadstoffeinflüsse auf die Bakterienanzahl (bzw. Makrophagenanzahl; Anzahl der phagozytierenden Makrophagen) bei Analyse der Einzelwochen im Vergleich zur Kontrolle;

b) die Unterschiede der Schadstoffe untereinander bei Analyse der Einzelwochen, falls bei der mehrfachen Varianzanalyse bei c) eine signifikante Wechselwirkung nachweisbar war.

Der Einsatz dieses Tests ist hier deskriptiv zu verstehen und soll Ergebnisse hervorheben, um Ansatzpunkte für weitere Untersuchungen zu haben.

Folgende Signifikanzniveaus wurden unterschieden:

$p > 0{,}05$ (n.s.) (=nicht signifikant)
$p < 0{,}05$ (*)
$p < 0{,}01$ (**)
$p < 0{,}001$ (***)

Die Ergebnisse der t-Tests sind in den Tabellen 1 - 9 dargestellt.

III. Durchführung

1.) Einfluß der Inhalationen von $PbCl_2$, $PbCl_2 + SO_2$ und $PbCl_2 + NO_2$ auf die Bakterieneliminationskapazität der Lunge

Wie im experimentellen Teil beschrieben, wurden die Versuchstiere eine, zwei, drei bzw. vier Wochen einem $PbCl_2$-Aerosol exponiert. Die mittlere Bleikonzentration in der Luft der Inhalationskammern betrug 18,38 µg Blei/m^3 Luft. In zwei weiteren Versuchen inhalierten die Versuchstiere ein Gemisch aus $PbCl_2 + SO_2$ bzw. $PbCl_2 + NO_2$. Die Konzentration von SO_2 betrug im Mittel 335 µg/m^3, von NO_2 315 µg/m^3.
Die Ergebnisse der Auszählung der nach Inhalation des Bakterienaerosols in den Lungenschnitten vorhandenen FITC - markierten Bakterien sind in Tab. 1 und Abb. 1 zusammengefaßt. Pro Lunge wurden 15 Schnitte ausgewertet und jeder Gewebeschnitt in 30 Einstellungen mikroskopisch durchgemustert und ausgezählt. Durch Mittelung wurde pro Tier ein Durchschnittswert aus insgesamt 450 Einzelauszählungen gebildet. Die in der Tabelle aufgeführten Mittelwerte $\bar{x}$ sind Mittelwerte von 4 - 8 Tieren.
Wie aus Abb. 1 hervorgeht, läßt sich bereits nach einer Inhalationszeit von einer Woche bei allen drei Schadstoffkombinationen eine signifikant höhere Anzahl von Bakterien pro Flächeneinheit in den Lungenschnitten nachweisen, was auf eine Verminderung der Bakterienelimination bei den schadstoffexponierten Tieren hindeutet. Nach zwei bzw. drei Wochen sind die Effekte weniger stark ausgeprägt; nach etwa dreiwöchiger

Exposition entspricht die Zahl der Bakterien in den Lungen der schadstoffexponierten Tiere etwa denen der Kontrolltiere. Nach einer Expositionszeit von vier Wochen tritt jedoch eine signifikante Verminderung der Bakterieneliminationskapazität bei den schadstoffexponierten Tieren ein. Am stärksten ist der Effekt bei den Tieren ausgeprägt, die nur $PbCl_2$ inhalierten.

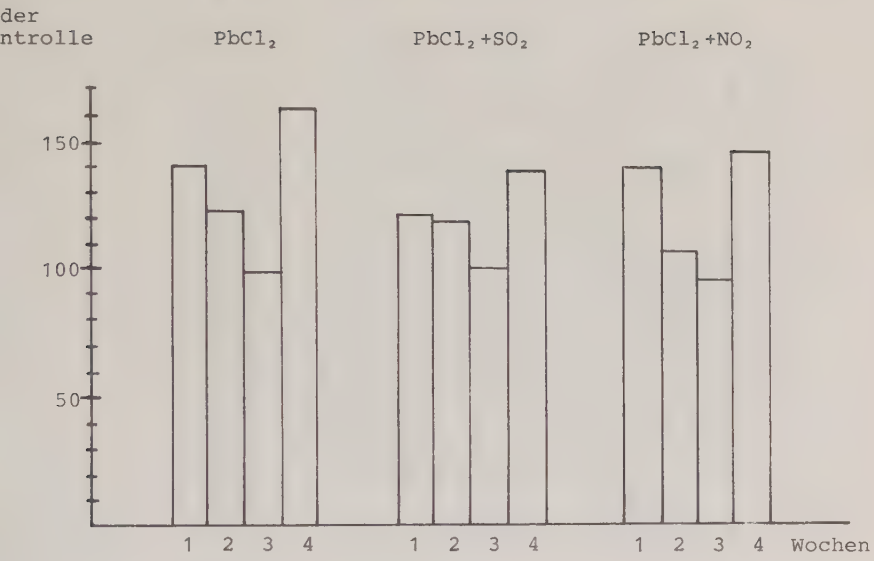

Abb. 1: Anzahl FITC - markierter Bakterien (Serratia marcescens) pro Flächeneinheit in Lungenschnitten von NMRI - Mäusen nach 1-, 2-, 3- und 4-wöchiger Inhalation von $PbCl_2$, $PbCl_2$ + SO_2 und $PbCl_2$ + NO_2.
Angegeben sind jeweils relative Werte (Kontrolle = 100 %).

	1. Woche	S	2. Woche	S	3. Woche	S	4. Woche	S
Kontrolle	$\bar{x}$ = 51,69 n = 5 s = 7,64		$\bar{x}$ = 44,98 n = 6 s = 8,326		$\bar{x}$ = 58,52 n = 5 s = 4,86		$\bar{x}$ = 53,70 n = 6 s = 2,56	
$PbCl_2$	$\bar{x}$ = 71,63 n = 6 s = 11,86	*	$\bar{x}$ = 54,95 n = 7 s = 10,14	n.s.	$\bar{x}$ = 56,67 n = 8 s = 12,76	n.s.	$\bar{x}$ = 86,91 n = 5 s = 2,15	***
$PbCl_2+SO_2$	$\bar{x}$ = 61,77 n = 8 s = 6,90	*	$\bar{x}$ = 52,86 n = 6 s = 4,73	n.s.	$\bar{x}$ = 58,24 n = 7 s = 6,09	n.s.	$\bar{x}$ = 73,46 n = 6 s = 14,77	**
$PbCl_2+NO_2$	$\bar{x}$ = 71,21 n = 4 s = 4,50	**	$\bar{x}$ = 47,57 n = 8 s = 10,10	n.s.	$\bar{x}$ = 55,05 n = 8 s = 9,14	n.s.	$\bar{x}$ = 77,56 n = 8 s = 24,90	*

Tab. 1: Anzahl FITC - markierter Bakterien (Serratia marcescens) pro Flächeneinheit in Lungenschnitten von NMRI - Mäusen nach 1-, 2-, 3- und 4-wöchiger Inhalation von gereinigter Frischluft (Kontrolle), $PbCl_2$, $PbCl_2+SO_2$ und $PbCl_2+NO_2$.

$\bar{x}$ = Durchschnittswert von n Tieren
n = Zahl der Tiere
s = Standardabweichung der Einzelwerte
S = Signifikanzniveau
n.s. = nicht signifikant

2. Einfluß der Inhalation von $PbCl_2$, $PbCl_2+SO_2$ und $PbCl_2+NO_2$ auf die Alveolarmakrophagenzahl

In den Lungenschnitten wurden nach ein-, zwei-, drei- und vierwöchiger Inhalation von $PbCl_2$ + SO_2 und $PbCl_2$ + NO_2 gleichzeitig die Makrophagen pro Flächeneinheit ausgezählt. Die Zahl der ausgewerteten Schnitte und Einstellungen entsprach den unter III. 1. genannten Bedingungen. Die Ergebnisse sind in Tab. 2 und Abb. 2 dargestellt. Wie aus Abb. 2 hervorgeht, tritt bei allen schadstoffexponierten Gruppen nach zweiwöchiger Expositionszeit eine signifikante Verminderung der Makrophagenzahl gegenüber den Kontrolltieren ein. Nach ein-, drei- und vierwöchiger Expositionszeit unterscheiden sich die Makrophagenzahlen der schadstoffexponierten Tiere nicht von denen der Kontrolltiere.

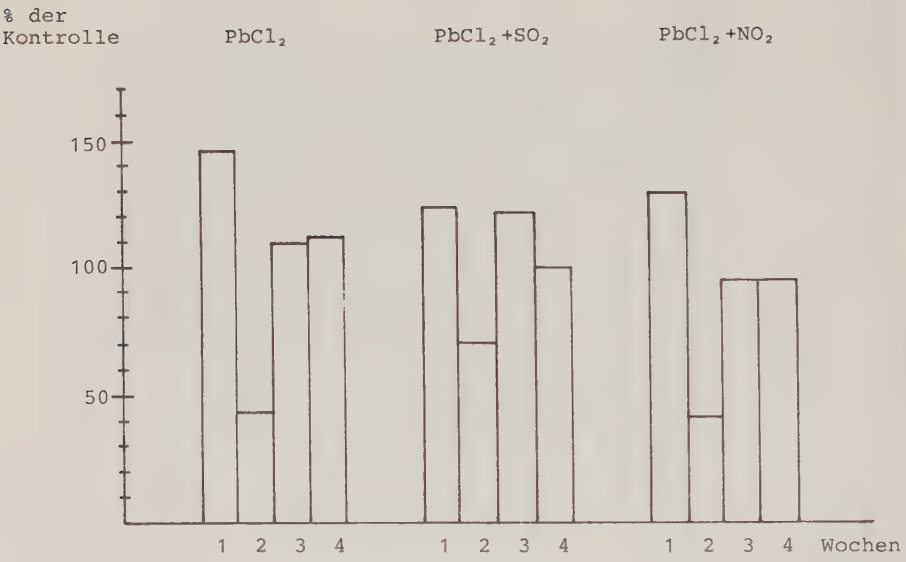

Abb. 2: Anzahl der Alveolarmakrophagen pro Flächeneinheit in Lungenschnitten von NMRI - Mäusen nach 1-, 2-, 3- und 4-wöchiger Inhalation von $PbCl_2$, $PbCl_2$ + SO_2 und $PbCl_2$ + NO_2.
Angegeben sind jeweils relative Werte (Kontrolle = 100 %).

3. Einfluß der Inhalation von $PbCl_2$, $PbCl_2$+SO_2 und $PbCl_2$+NO_2 auf die Anzahl phagozytierender Alveolarmakrophagen

In den Lungenschnitten wurden nach ein-, zwei-, drei- und vierwöchiger Inhalation von $PbCl_2$, $PbCl_2$ + SO_2 und $PbCl_2$ + NO_2 auch die Anzahl der phagozytierenden Alveolarmakrophagen pro Flächeneinheit bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 und Abb. 3 dargestellt. Danach tritt bei allen schadstoffexponierten Gruppen nach zwei-, drei- und vierwöchiger Inhalationszeit eine z.T. signifikante Verminderung der Anzahl phagozytierender Alveolarmakrophagen ein.

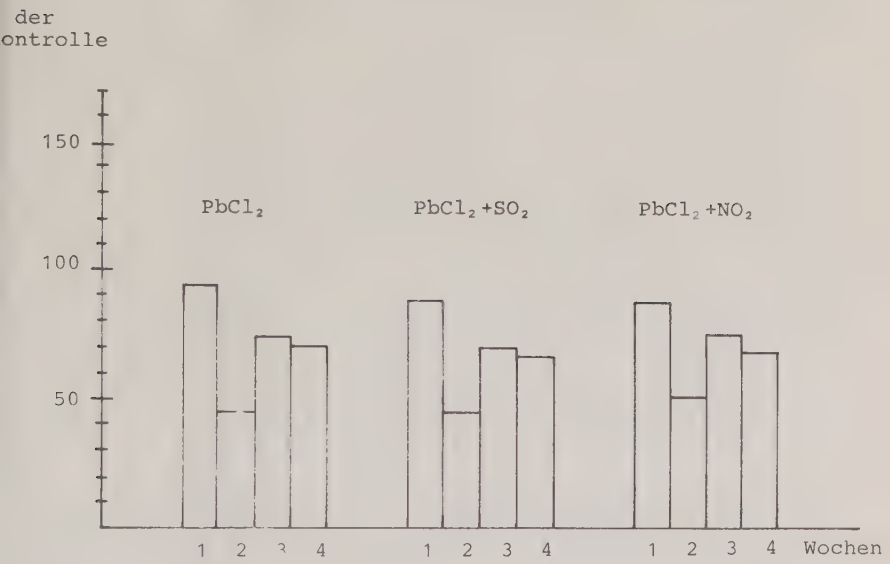

Abb. 3: Anzahl phagozytierender Alveolarmakrophagen pro Flächeneinheit in Lungenschnitten von NMRI - Mäusen nach 1-, 2-, 3- und 4-wöchiger Inhalation von $PbCl_2$, $PbCl_2$ + SO_2 und $PbCl_2$ + NO_2.
Angegeben sind jeweils relative Werte (Kontrolle = 100 %).

	1. Woche	S	2. Woche	S	3. Woche	S	4. Woche	S
Kontrolle	$\bar{x}$ = 0,65 n = 6 s = 0,15		$\bar{x}$ = 0,73 n = 5 s = 0,11		$\bar{x}$ = 0,61 n = 7 s = 0,11		$\bar{x}$ = 0,65 n = 6 s = 0,12	
$PbCl_2$	$\bar{x}$ = 0,36 n = 6 s = 0,12	**	$\bar{x}$ = 0,19 n = 6 s = 0,61	***	$\bar{x}$ = 0,94 n = 6 s = 0,23	***	$\bar{x}$ = 0,14 n = 8 s = 0,10	***
$PbCl_2+SO_2$	$\bar{x}$ = 0,19 n = 8 s = 0,38	***	$\bar{x}$ = 0,65 n = 7 s = 0,48	***	$\bar{x}$ = 0,65 n = 7 s = 0,57	***	$\bar{x}$ = 0,28 n = 7 s = 0,48	***
$PbCl_2+NO_2$	$\bar{x}$ = 0,14 n = 5 s = 0,27	***	$\bar{x}$ = 0,21 n = 7 s = 0,90	***	$\bar{x}$ = 0,21 n = 8 s = 0,44	***	$\bar{x}$ = 0,11 n = 6 s = 0,28	***

Tab. 3: Anzahl phagozytierender Alveolarmakrophagen pro Flächeneinheit in Lungenschnitten von NMRI - Mäusen nach 1-, 2-, 3- und 4-wöchiger Inhalation von gereinigter Frischluft (Kontrolle), $PbCl_2$, $PbCl_2+SO_2$ und $PbCl_2+NO_2$.

$\bar{x}$ = Durchschnittswert von n Tieren
n = Zahl der Tiere
s = Standardabweichung der Einzelwerte
S = Signifikanzniveau
n.s. = nicht signifikant

4. Einfluß der Inhalation von SO_2 und NO_2 auf die Bakterienelimination und auf die Anzahl der Alveolarmakrophagen sowie der phagozytierenden Alveolarmakrophagen

In analoger Weise wurde der Einfluß der Inhalation von SO_2 und NO_2 (über eine, zwei, drei und vier Wochen) auf die Bakterienelimination und die Anzahl der Alveolarmakrophagen sowie der phagozytierenden Alveolarmakrophagen untersucht. Die Ergebnisse der Auszählungen sind in den Tabellen 4 bis 6 sowie in den Abbildungen 4 bis 6 dargestellt. Daraus geht hervor, daß die Bakterienelimination nach zwei-, drei- und vierwöchiger SO_2-Exposition zum Teil signifikant vermindert ist. Bei Inhalation von NO_2 tritt dieser Effekt erst nach vierwöchiger Expositionszeit ein. Die Zahl der Alveolarmakrophagen ist während des Versuchszeitraumes gegenüber den Kontrolltieren nicht wesentlich vermindert; nach vierwöchiger Expositionszeit ist ein Anstieg der Alveolarmakrophagenzahlen feststellbar. Die Anzahl phagozytierender Alveolarmakrophagen ist nach einwöchiger SO_2 und NO_2-Exposition gegenüber den Kontrolltieren vermindert, unterscheidet sich bei längerer Exposition (zwei, drei und vier Wochen) jedoch nicht von denen der Kontrolltiere.

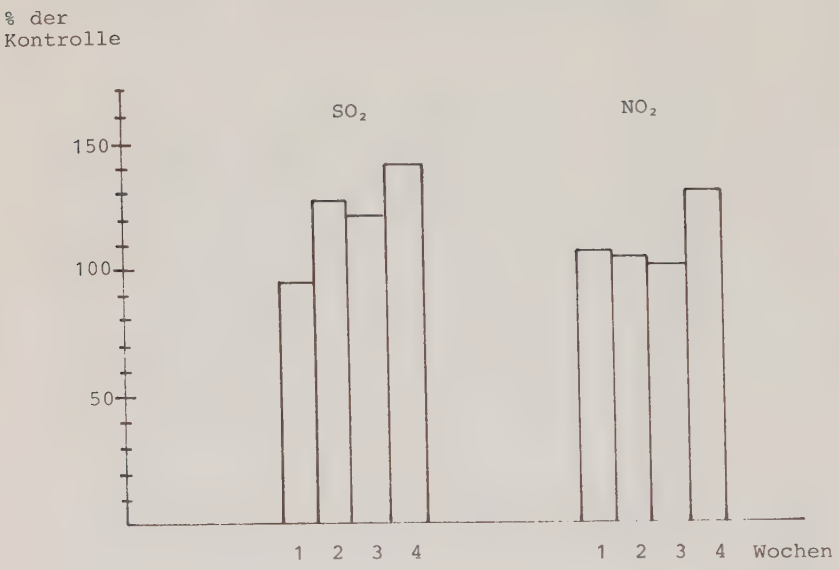

Abb. 4: Anzahl FITC - markierter Bakterien (Serratia marcescens) pro Flächeneinheit in Lungenschnitten von NMRI - Mäusen nach 1-, 2-, 3- und 4-wöchiger Inhalation von SO_2 und NO_2.
Angegeben sind jeweils relative Werte (Kontrolle = 100 %).

	1. Woche	S	2. Woche	S	3. Woche	S	4. Woche	S
Kontrolle	$\bar{x}$ = 74,84 n = 8 s = 12,54		$\bar{x}$ = 68,62 n = 6 s = 8,66		$\bar{x}$ = 59,81 n = 7 s = 11,49		$\bar{x}$ = 63,80 n = 7 s = 5,56	
SO_2	$\bar{x}$ = 70,36 n = 6 s = 13,12	n.s.	$\bar{x}$ = 87,26 n = 7 s = 9,97	**	$\bar{x}$ = 70,98 n = 5 s = 2,14	n.s.	$\bar{x}$ = 89,16 n = 7 s = 15,53	**
NO_2	$\bar{x}$ = 78,79 n = 7 s = 13,40	n.s.	$\bar{x}$ = 71,50 n = 8 s = 13,55	n.s.	$\bar{x}$ = 59,91 n = 7 s = 7,33	n.s.	$\bar{x}$ = 82,49 n = 7 s = 18,40	*

Tab. 4: Anzahl FITC - markierter Bakterien (Serratia marcescens) pro Flächeneinheit in Lungenschnitten von NMRI - Mäusen nach 1-, 2-, 3- und 4-wöchiger Inhalation von gereinigter Frischluft (Kontrolle), SO_2 und NO_2.

$\bar{x}$ = Durchschnittswert von n Tieren
n = Zahl der Tiere
s = Standardabweichung der Einzelwerte
S = Signifikanzniveau
n.s. = nicht signifikant

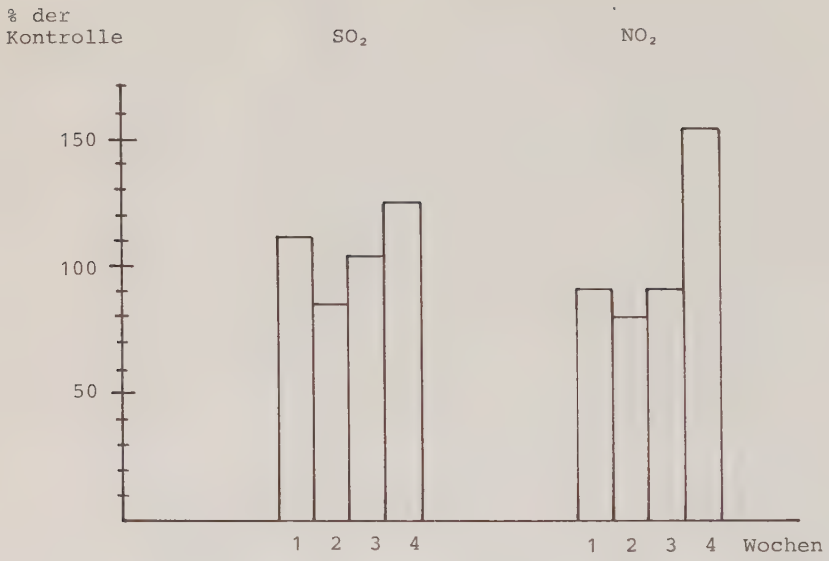

Abb. 5: Anzahl der Alveolarmakrophagen pro Flächeneinheit in Lungenschnitten von NMRI - Mäusen nach 1-, 2-, 3- und 4-wöchiger Inhalation von SO_2 und NO_2.
Angegeben sind jeweils relative Werte (Kontrolle = 100 %).

	1. Woche	S	2. Woche	S	3. Woche	S	4. Woche	S
Kontrolle	$\bar{x}$ = 38,26 n = 7 s = 5,73		$\bar{x}$ = 36,03 n = 8 s = 3,46		$\bar{x}$ = 27,46 n = 7 s = 6,33		$\bar{x}$ = 25,30 n = 6 s = 3,76	
SO_2	$\bar{x}$ = 42,37 n = 8 s = 5,14	n.s.	$\bar{x}$ = 30,38 n = 6 s = 7,40	n.s.	$\bar{x}$ = 28,38 n = 8 s = 2,88	n.s.	$\bar{x}$ = 31,42 n = 6 s = 8,12	n.s.
NO_2	$\bar{x}$ = 34,16 n = 7 s = 5,32	n.s.	$\bar{x}$ = 28,63 n = 7 s = 3,64	**	$\bar{x}$ = 24,55 n = 6 s = 2,42	n.s.	$\bar{x}$ = 38,70 n = 7 s = 4,30	***

Tab. 5: Anzahl der Alveolarmakrophagen pro Flächeneinheit in Lungenschnitten von NMRI - Mäusen nach 1-, 2-, 3- und 4-wöchiger Inhalation von gereinigter Frischluft (Kontrolle) SO_2 und NO_2.

$\bar{x}$ = Durchschnittswert von n Tieren
n = Zahl der Tiere
s = Standardabweichung der Einzelwerte
S = Signifikanzniveau
n.s. = nicht signifikant

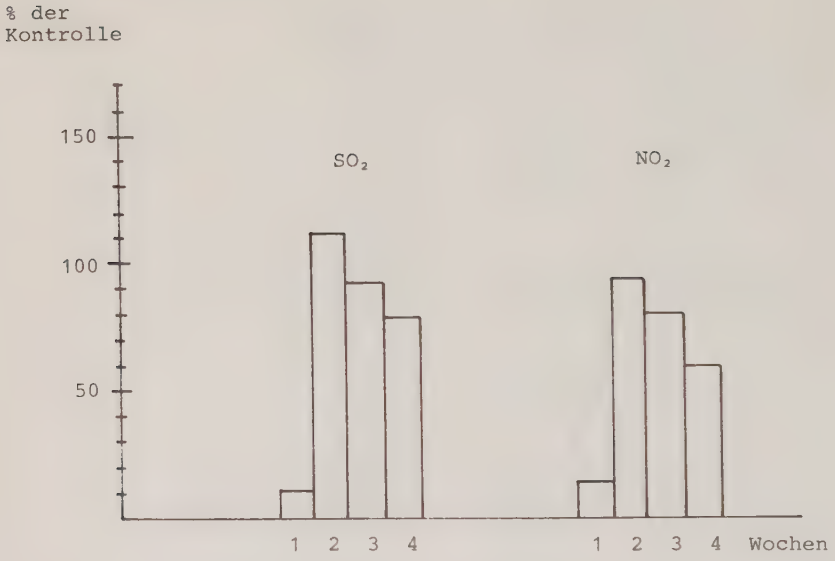

Abb. 6: Anzahl phagozytierender Alveolarmakrophagen pro Flächeneinheit in Lungenschnitten von NMRI - Mäusen nach 1-, 2-, 3- und 4-wöchiger Inhalation von SO_2 und NO_2.
Angegeben sind jeweils relative Werte (Kontrolle = 100 %).

	1. Woche	S	2. Woche	S	3. Woche	S	4. Woche	S
Kontrolle	$\bar{x}$ = 0,87 n = 7 s = 0,14		$\bar{x}$ = 0,90 n = 8 s = 0,55		$\bar{x}$ = 0,78 n = 7 s = 0,14		$\bar{x}$ = 0,69 n = 6 s = 0,13	
SO_2	$\bar{x}$ = 0,10 n = 8 s = 0,37	***	$\bar{x}$ = 1,00 n = 6 s = 0,13	n.s.	$\bar{x}$ = 0,71 n = 8 s = 0,14	n.s.	$\bar{x}$ = 0,54 n = 6 s = 0,27	n.s.
NO_2	$\bar{x}$ = 0,11 n = 7 s = 0,59	***	$\bar{x}$ = 0,84 n = 7 s = 0,83	n.s.	$\bar{x}$ = 0,62 n = 6 s = 0,12	n.s.	$\bar{x}$ = 0,40 n = 7 s = 0,81	***

Tab. 6: Anzahl phagozytierender Alveolarmakrophagen pro Flächeneinheit in Lungenschnitten von NMRI - Mäusen nach 1-, 2-, 3- und 4-wöchiger Inhalation von gereinigter Frischluft (Kontrolle), SO_2 und NO_2.

$\bar{x}$ = Durchschnittswert von n Tieren
n = Zahl der Tiere
s = Standardabweichung der Einzelwerte
S = Signifikanzniveau
n.s. = nicht signifikant

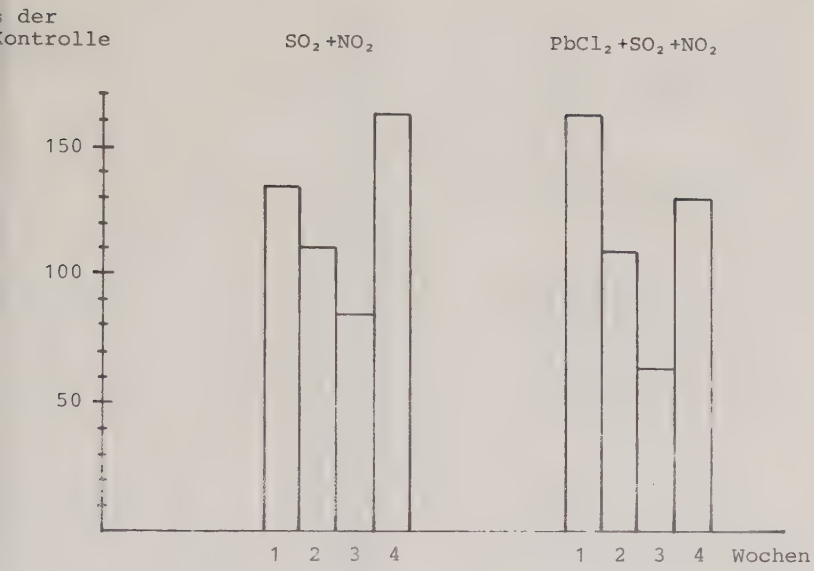

Abb. 7: Anzahl FITC - markierter Bakterien (Serratia marcescens) pro Flächeneinheit in Lungenschnitten von NMRI - Mäusen nach 1-, 2-, 3- und 4-wöchiger Inhalation von SO_2+NO_2 und $PbCl_2+SO_2+NO_2$.
Angegeben sind jeweils relative Werte (Kontrolle = 100 %).

	1. Woche	S	2. Woche	S	3. Woche	S	4. Woche	S
Kontrolle	$\bar{x}$ = 62,96 n = 7 s = 23,50		$\bar{x}$ = 90,96 n = 8 s = 11,94		$\bar{x}$ = 34,79 n = 7 s = 9,87		$\bar{x}$ = 70,14 n = 7 s = 8,88	
SO_2+NO_2	$\bar{x}$ = 87,25 n = 8 s = 29,04	n.s.	$\bar{x}$ = 100,10 n = 6 s = 9,50	n.s.	$\bar{x}$ = 29,24 n = 8 s = 4,76	n.s.	$\bar{x}$ = 114,51 n = 8 s = 36,33	**
$PbCl_2+SO_2+NO_2$	$\bar{x}$ = 102,90 n = 7 s = 36,42	*	$\bar{x}$ = 99,46 n = 7 s = 19,54	n.s.	$\bar{x}$ = 21,85 n = 8 s = 8,49	*	$\bar{x}$ = 90.63 n = 8 s = 29,51	n.s.

Tab. 7: Anzahl FITC - markierter Bakterien (Serratia marcescens) pro Flächeneinheit in Lungenschnitten von NMRI - Mäusen nach 1-, 2-, 3- und 4-wöchiger Inhalation von gereinigter Frischluft (Kontrolle), SO_2+NO_2 und $PbCl_2+SO_2+NO_2$.

$\bar{x}$ = Durchschnittswert von n Tieren
n = Zahl der Tiere
s = Standardabweichung der Einzelwerte
S = Signifikanzniveau
n.s. = nicht signifikant

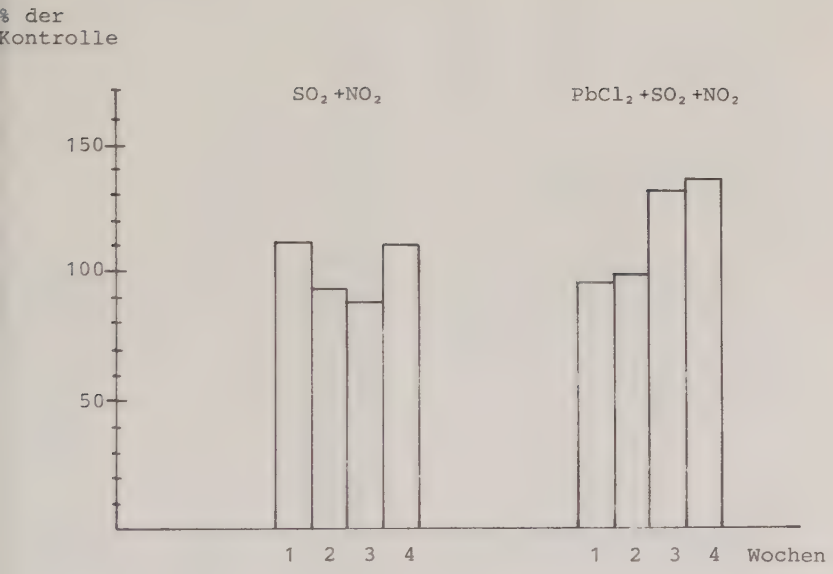

Abb. 8: Anzahl der Alveolarmakrophagen pro Flächeneinheit in Lungenschnitten von NMRI - Mäusen nach 1-, 2-, 3- und 4-wöchiger Inhalation von SO_2+NO_2 und $PbCl_2+SO_2+NO_2$.
Angegeben sind jeweils relative Werte (Kontrolle = 100 %).

	1. Woche	S	2. Woche	S	3. Woche	S	4. Woche	S
Kontrolle	$\bar{x}$ = 28,04 n = 7 s = 5,78		$\bar{x}$ = 43,33 n = 7 s = 4,47		$\bar{x}$ = 34,59 n = 7 s = 4,15		$\bar{x}$ = 28,96 n = 7 s = 7,23	
SO_2+NO_2	$\bar{x}$ = 31,0 n = 8 s = 3,15	n.	$\bar{x}$ = 40,18 n = 8 s = 4,22	n.s.	$\bar{x}$ = 30,01 n = 8 s = 5,10	n.s.	$\bar{x}$ = 31,9 n = 8 s = 1,92	n.s.
$PbCl_2+SO_2+NO_2$	$\bar{x}$ = 26,76 n = 8 s = 3,84	n.	$\bar{x}$ = 42,08 n = 8 s = 5,92	n.s.	$\bar{x}$ = 45,32 n = 5 s = 4,64	**	$\bar{x}$ = 39,17 n = 7 s = 8,06	*

Tab. 8: Anzahl der Alveolar[illegible]phagen pro Flächeneinheit in Lungenschnitten von NMRI - Mäusen nach [illegible]-, 3- und 4-wöchiger Inhalation von gereinigter Frischluft (Kontrolle), SO_2+NO_2 und $PbCl_2+SO_2+NO_2$.

$\bar{x}$ = Durchschnittswert von n Tieren
n = Zahl der Tiere
s = Standardabweichung der Einzelwerte
S = Signifikanzniveau
n.s. = nicht signifikant

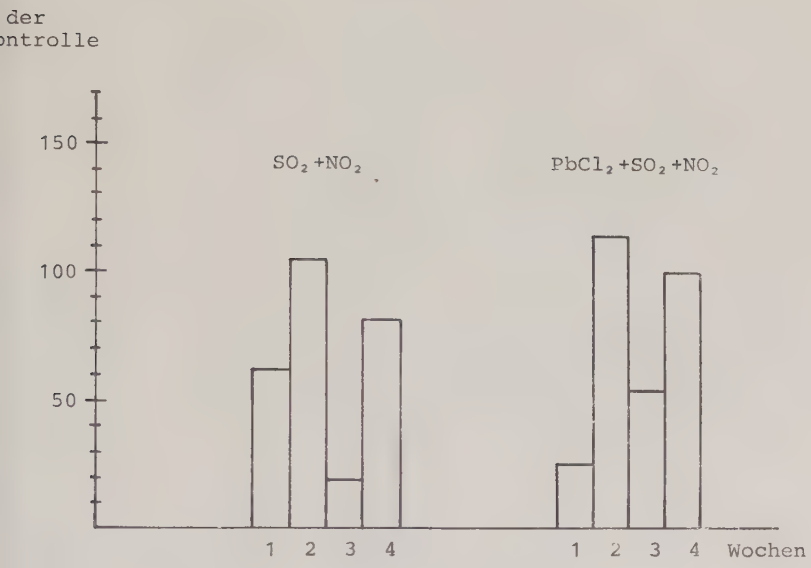

Abb. 9: Anzahl phagozytierender Alveolarmakrophagen pro Flächeneinheit in Lungenschnitten von MRI - Mäusen nach 1-, 2-, 3- und 4-wöchiger Inhalation von SO_2+NO_2 und $PbCl_2+SO_2+NO_2$. Angegeben sind jeweils relative Werte (Kontrolle = 100 %).

	1. Woche	S	2. Woche	S	3. Woche	S	4. Woche	S
Kontrolle	$\bar{x}$ = 0,62 n = 7 s = 0,11		$\bar{x}$ = 0,77 n = 7 s = 0,36		$\bar{x}$ = 0,71 n = 7 s = 0,16		$\bar{x}$ = 0,67 n = 7 s = 0,82	
SO_2+NO_2	$\bar{x}$ = 0,38 n = 8 s = 0,14	**	$\bar{x}$ = 0,80 n = 8 s = 0,18	n.s.	$\bar{x}$ = 0,14 n = 8 s = 0,47	***	$\bar{x}$ = 0,54 n = 8 s = 0,76	**
$PbCl_2+SO_2+NO_2$	$\bar{x}$ = 0,15 n = 8 s = 0,92	***	$\bar{x}$ = 0,88 n = 8 s = 0,11	*	$\bar{x}$ = 0,38 n = 5 s = 0,15	**	$\bar{x}$ = 0,66 n = 7 s = 0,94	n.s.

Tab. 9: Anzahl phagozytierender Alveolarmakrophagen pro Flächeneinheit in Lungenschnitten von NMRI - Mäusen nach 1-, 2-, 3- und 4-wöchiger Inhalation von gereinigter Frischluft (Kontrolle), SO_2+NO_2 und $PbCl_2+SO_2+NO_2$.

$\bar{x}$ = Durchschnittswert von n Tieren
n = Zahl der Tiere
s = Standardabweichung der Einzelwerte
S = Signifikanzniveau
n.s. = nicht signifikant

Ergebnisse der übrigen untersuchten Parameter

Bei den schadstoffexponierten Tieren war keine erhöhte Mortalitätsrate im Vergleich zur Kontrollgruppe zu verzeichnen.
Ebenso war keine Veränderung des Körpergewichts in irgendeiner Gruppe von Mäusen zu beobachten.
Bezüglich des Blutstatus zeigten sich auch mit zunehmender Expositionsdauer keine Unterschiede zur Kontrolle, d.h., die Bestimmung von Erythrozytenzahl, Hämoglobin und Leukozytenzahl ergab normale Werte.
Weiterhin ließen sich sowohl makroskopisch wie auch lichtmikroskopisch mit Hilfe von Hämatoxylin - Eosin - Färbungen, die stichprobenweise angefertigt wurden, keine Veränderungen der Lungen erkennen.

IV. Diskussion

Die vorliegenden Untersuchungsergebnisse zeigen, daß die Elimination inhalierter Bakterien durch Inhalation von $PbCl_2$, SO_2 und NO_2 sowie durch kombinierte Einwirkung von $PbCl_2$ + SO_2, $PbCl_2$ + NO_2 und $PbCl_2$ + SO_2 + NO_2 beeinflußt und zum Teil signifikant vermindert wird. Die Zahl der in den Lungenschnitten nachweisbaren Alveolarmakrophagen sowie die Zahl der phagozytierenden Alveolarmakrophagen wird durch die Inhalation der untersuchten Schadstoffe bzw. Schadstoffkombinationen in unterschiedlicher Weise beeinflußt. Die Untersuchungsergebnisse geben Hinweise darauf, daß auch die Anzahl phagozytierender Alveolarmakrophagen nach Inhalation einzelner oder kombiniert einwirkender Schadstoffe vermindert ist.
Die Schadstoffkonzentrationen, mit denen die Untersuchungen durchgeführt wurden, entsprachen Konzentrationen, die auch unter realen Umweltbedingungen vorkommen. Die Inhalation eines $PbCl_2$-Aerosols mit einer mittleren Konzentration von 18,38 µg Pb/m³ Luft über 8 Stunden und jeweils 5 Tage pro Woche entspricht einer mittleren Bleikonzentration von 4,38 µg Pb/m³ Luft. Dieser Wert ist dem für Blei vorgeschlagenen Immissionswert der TA Luft (Regierungsentwurf vom 27. 8. 1978) von 2 µg Pb/m³ Luft als Jahresmittelwert vergleichbar. Luftbleikonzentrationen dieser Größenordnung können - zumindest über Perioden von einigen Stunden, Tagen oder Wochen - in Gebieten mit starker Luftverunreinigung auftreten; Werte bis etwa 10 µg Pb/m³ als Stunden- oder 8-Stunden-Mittelwerte werden im übrigen an vielen stark befahrenen Straßen in

Stadtgebieten gemessen. Der derzeit gültige MAK-Wert beträgt 100 µg Pb/m³ Luft. Da sich die MAK-Werte auf eine Expositionszeit von 8 Stunden pro Tag an 5 Tagen der Woche beziehen, resultiert daraus eine durchschnittliche Belastung von 23,8 µg Pb/m³ Luft.
NO_2 und SO_2 wurden an 5 Tagen pro Woche inhaliert, was bei den gewählten Konzentrationen einer durchnittlichen Konzentration von 0,225 µg NO_2/m³ bzw. 0,239 µg SO_2/m³ entspricht. Diese Werte entsprechen in etwa dem doppelten der Immissionswerte für NO_2 und SO_2 der TA Luft vom 23. 9. 1974 bzw. der TA Luft 1978 (Regierungsentwurf vom 6. 9. 1978). Der Kurzzeitwert (95 % Perzentilwert) von NO_2 beträgt derzeit 300 µg NO_2/m³ Luft; der entsprechende Wert für SO_2 beträgt 400 µg SO_2/m³ Luft. In Stadtgebieten werden üblicherweise Konzentrationen von 60 - 100 µg SO_2/m³ und 60 - 100 µg NO_2/m³ als Jahresmittelwerte gemessen (vergl. Luftreinhaltepläne Rheinschiene-Süd, Ruhrgebiet-West und Ruhrgebiet-Ost). In stark belasteten Gebieten wie z.B. im Großraum Duisburg betragen die SO_2-Konzentrationen - berechnet als Jahresmittelwerte - zwischen 100 und 158 µg SO_2/m³ Luft. In einigen Einheitsflächen des Großraumes Duisburg wurden 95 % - Perzentilwerte (Kurzzeitwerte) zwischen 200 und 300 µg NO_2/m³ Luft bestimmt.

Die Wirkung einzelner Luftschadstoffe oder bestimmter Luftschadstoffkombinationen auf die Lunge sowie auf Abwehrfunktionen der Lunge sind von verschiedenen Autoren untersucht worden.
Bingham et al. (1968) beschreiben bei Ratten nach Inhalation von Bleipartikeln (10 und 150 µg Blei/m³), die als Bleisesquioxid vorlagen, eine deutliche Verminderung der aus den Lungen ausspülbaren Makrophagen.

Beck et al. (1973) beobachteten an in vitro gezüchteten menschlichen Lungenfibroblasten sowie an Alveolarmakrophagen von Meerschweinchen eine rasche Zytolyse bzw. eine langsamer ablaufende grobblasige Vakuolisierung nach Inkubation mit anorganischen Bleiverbindungen, die in einer Konzentration von 3 µg Blei/10^6 Zellen zugegeben wurden. Diesen ausgeprägt zytotoxischen Effekt bestätigen auch Bruch et al. (1973). Nach Inhalation von Bleioxid in einer mittleren Konzentration von 150 µg Blei/m³ über 14 Tage fanden die Autoren eindeutige Veränderungen der Mitochondrien und des Endoplasmatischen Retikulums der Alveolarmakrophagen und der Pneumozyten Typ 1. Die Aktivität der Benzpyren-Hydroxylase sank nach viertägiger Begasung auf 10 %, kehrte allerdings nach einem inhalationsfreien Intervall von 3 Tagen auf ihren Ausgangswert zurück. Weiterhin stellten die Autoren eine um 30 - 40 % verschlechterte Lungenreinigung bei Tieren fest, die abwechselnd Titanoxid und Bleioxid aufnahmen. Durch die zelluläre Schädigung kommt es zu einer Verschlechterung der Lungenreinigung, die wiederum eine größere Verweildauer exogener Substanzen nach sich zieht. Darüber hinaus werden die kanzerogenen Kohlenwasserstoffe wesentlich schlechter metabolisiert. Die Untersuchungen zeigen, daß bei Inhalation von Bleipartikeln mit einer Konzentration von etwa 150 µg Blei/m³ mit diesen Effekten auf die Lunge zu rechnen ist.

Die Übertragbarkeit der Ergebnisse der oben angegebenen in vitro Untersuchungen und Tierversuche auf den Mensche ist jedoch umstritten, da derartige Luftbleikonzentrationen in der Praxis - sieht man von kurzzeitigen Spitzebelastungen am Arbeitsplatz ab - nicht vorkommen. Verschiedene andere Untersuchungen sprechen jedoch dafür,

daß auch bei Luftbleikonzentrationen, die unter realen Umweltbedingungen oder am Arbeitsplatz vorkommen können, Effekte auf die Lunge nachweisbar sind. So beschreiben z.B. Schlipköter et al. (1977), daß nach kurzzeitiger Bleiexposition (12,8 µg Blei/m³ Luft) über 15 Tage die Bakterienelimination aus den Lungen von NMRI-Mäusen verringert ist. Die Untersuchung der Zahl phagozytierender Alveolarmakrophagen sowie der Anzahl nicht phagozytierender Alveolarmakrophagen erbrachte jedoch keine klaren Unterschiede zwischen Kontroll- und Versuchstieren.
Insgesamt bedarf die Frage, ob unter realen Umweltbedingungen, bei denen in der Regel Luftbleikonzentrationen zwischen 0,5 und 5 µg Blei/m³ Luft auftreten, Verschlechterungen der Abwehrfunktionen der Lunge auftreten, weiterer Untersuchungen. Aufgrund der vorliegenden tierexperimentellen Untersuchungen können derartige Effekte bei hoher inhalativer Bleibelastung - etwa in Verkehrsstoßzeiten oder am Arbeitsplatz - nicht ausgeschlossen werden.
Die in der Literatur beschriebenen Effekte von NO_2 auf die Lunge bzw. auf Abwehrfunktionen der Lunge beziehen sich überwiegend auf Untersuchungen, die bei sehr hoher NO_2-Konzentrationen durchgeführt wurden und die unter realen Umweltbedingungen sowie am Arbeitsplatz kaum anzutreffen sind. So fand Ehrlich (1968) bei Mäusen nach dreimonatiger Exposition von 0,5 ppm NO_2 (0,96 mg/m³) einen Anstieg der Mortalitätsrate nach Inhalation von Streptococcus pneumoniae. Schlipköter (1975) berichtet, daß die Mortalität von Mäusen nach Inhalation von Streptococcus pneumoniae und Exposition von 1 ppm NO_2 (1,9 mg/m³) nach 21 Tagen erhöht war. Gardner et al. (1969) fanden nach Exposition mit 10 ppm NO_2 (19,1 mg/m³) über drei Stunden bei Kaninchen

eine reduzierte Phagozytose von Streptokokken. Auch Goldstein (1973) berichtet von einer verminderten Makrophagenfunktion nach NO_2-Inhalation: die Elimination von Staphylococcus aureus war nach NO_2-Exposition (2,3 ppm NO_2; 4,4 mg/m³) über 17 Stunden vermindert. Stephens et al. (1972) fanden bei Ratten nach 48stündiger NO_2-Exposition (17 ppm; 32,5 mg/m³) morphologische Veränderungen im Lungengewebe, z.B. Gewebsverdickungen und Abstoßung von Pneumozyten Typ 1. Über ähnliche Resultate berichteten auch Witschi et al. (1975). Thomas (1972) beschreibt eine toxische Wirkung von NO_2 auf Pneumozyten Typ 1 in Rattenlungen bereits nach einstündiger Exposition von 1 ppm (1,9 mg/m³).
Hinsichtlich der Wirkungen der Inhalation von NO_2 auf die Lunge werden darüber hinaus zwei weitere Effekte diskutiert: die Verminderung des Kollagenanteils der Lungenzellen mit der Folge der Entstehung von Lungenemphysemen sowie Schädigungen des Mukoziliarsystems.

So berichten Kosmider et al. (1972) z.B. über einen Kollagenzerfall in Meerschweinchenlungen nach sechsmonatiger NO_2-Exposition von 1 ppm (1,9 mg/m³). Blair et al. (1969) beobachteten nach dreimonatiger NO_2-Exposition (0,5 ppm; 0,9 mg/m³) eine Vergrößerung der Alveolen. Bezüglich der Wirkungen von NO_2 auf das Mukoziliarsystem liegen folgende Befunde vor: Stephens et al. (1972) stellten nach 48stündiger NO_2-Exposition (17 ppm; 32,5 mg/m³) einen Zilienverlust fest. Giordano (1972) beobachtete nach sechswöchiger NO_2-Exposition (6 ppm; 11,5 mg/m³) bei Ratten eine Verlangsamung bzw. ein Sistieren des Ziliartransportes. Dabei werden zwei Wirkungsmöglichkeiten diskutiert: NO_2-bedingte Schädigungen des energieerzeugenden Systems (insbesondere ATP) der Flimmerepithelzellen

sowie Veränderungen der Becherzellen und der Schleimzusammensetzung, die ebenfalls zu Änderungen der Ziliarmotilität führen.
Inwieweit diese tierexperimentellen Untersuchungsergebnisse, die überwiegend bei relativ hohen NO_2-Konzentrationen erhalten wurden, auf den Menschen übertragbar bzw. unter den realen Umwelt- oder Arbeitsplatzbedingungen von Bedeutung sind, erscheint fraglich. Hinweise darauf, daß durch eine relativ hohe NO_2-Belastung die pulmonale Infektionsresistenz beim Menschen vermindert sein kann, ergeben sich jedoch aufgrund einer Untersuchung von Shy et al. (1970): In einer Untersuchung an Schulkindern, die in einem Bezirk wohnten, in dem relativ hohe NO_2-Konzentrationen auftraten, fanden die Autoren, daß Erkrankungen der Atemwege bei zwei Epidemien (A 2-Hongkong-Virus; Influenza B-Virus) häufiger auftraten als in zwei Kontrollgruppen aus weniger stark belasteten Gebieten.

Schwefeldioxid, ein farbloses, stechend riechendes Gas, das überwiegend bei der Verbrennung von schwefelhaltigen Energieträgern (Kohle, Erdöl, Erdgas) und in geringerem Umfang bei industriellen Prozessen (u.a. Eisen- und Stahlerzeugung, Schwefelsäure- und Düngemittelproduktion) entsteht, wirkt insbesondere in Kombination mit Staub auf die Atemwege und führt zu Reizungen und entzündlichen Veränderungen der Schleimhäute. In zahlreichen epidemiologischen Studien wurde als Folge einer kombinierten Einwirkung von Schwefeldioxid und Feinstäuben ein vermehrtes Auftreten von chronischer Bronchitis und anderen Atemwegserkrankungen nachgewiesen. Da außerdem bekannt ist, daß niedrige SO_2-Konzentrationen durch parasympathische Stimulationen eine bronchokonstriktorische Wirkung ausüben, kommt es infolge der Einwirkung

von SO_2 ebenfalls zu einer Erschwerung der Ein- und Ausatmung und damit zu einer Verschlechterung des Gasaustausches in der Lunge. Es wird auch über eine verminderte Infektabwehr bei SO_2-exponierten Populationen berichtet.
Bei der Wirkung von SO_2 ist zu berücksichtigen, daß eine schnelle Oxidation von SO_3 erfolgen kann, und beide Produkte unter Bildung von Schwefelsäure bzw. schwefliger Säure leicht wasserlöslich sind. Aus diesem Grund kann bei der Inhalation von SO_2 nicht von einer isolierten SO_2-Wirkung ausgegangen werden. Zusammen mit Staub wurde SO_2 in den vergangenen Jahren als Indikator der Luftverunreinigung verwendet. Hinsichtlich der Wirkungen von SO_2 auf die Lungenreinigung und die Infektabwehr der Lunge liegen eine Fülle von humanmedizinischen und tierexperimentellen Untersuchungsergebnissen vor. Häufig untersucht wurden dabei die Wirkungen von SO_2 auf das Mukoziliarsystem. Wolf et al. (1975) berichten darüber, daß bei erwachsenen Versuchspersonen nach Inhalation von 5 ppm (13,5 mg/m³) SO_2 eine vorübergehende Wirkung auf die Mukoziliarfunktion zu verzeichnen ist. Im Lungenfunktionstest ergab sich ein vermindertes Exspirium, welches typisch ist für einen Spasmus der Bronchiolen. Wakabayashi (1977) fand in Versuchen mit Hühnern, daß bei Exposition mit 1,4 ppm (3,7 mg/m³) SO_2 die Mukoziliaraktivität abnahm. Er gab einen Schwellenwert von 1 ppm (2,7 mg/m³) an, stellte aber gleichzeitig fest, daß die SO_2-Wirkung reversibel ist, da bei intermittierender Verabreichung die Funktion des Mukoziliarsystems sich zwischendurch wieder erholt. Knaus (1976) beobachtete nach 6-tägiger SO_2-Inhalation (600-700 ppm; 1600-1865 mg/m³) eine Abnahme des Ziliartransports in Rattenlungen. Holma et al.

(1977) führen die Verminderung des Mukoziliarsystems nach Inhalation von SO_2 vor allem auf eine starke Acidisierung der Schleimhäute zurück, wobei ein Absinken der pH-Werte unter 5 praktisch eine Ziliostase bewirkt. Die Autoren machen jedoch geltend, daß die gegenwärtig in der Atmosphäre vorkommenden SO_2-Konzentrationen keinen derartig schädigenden Einfluß haben können, da solche pH-Werte unter realen Umweltbedingungen nie erreicht würden.

Die vorliegenden Untersuchungsergebnisse machen deutlich, daß durch Inhalation von SO_2, NO_2 und $PbCl_2$-Aerosol in Konzentrationen, die realen Bedingungen in der Umwelt oder am Arbeitsplatz entsprechen, bestimmte Abwehrmechanismen der Lunge beeinflußt werden können. Generell ist eine Verschlechterung der Lungenreinigung bzw. der Elimination inhalierter Bakterien feststellbar. Die Zahl der Alveolarmakrophagen weist ebenfalls gewisse, jedoch unregelmäßige Veränderungen auf. Die Zahl der phagozytierenden Alveolarmakrophagen ist vermindert, insbesondere bei Einwirkung von $PbCl_2$-Aerosol, allein oder in Kombination mit SO_2 und/oder NO_2.

Der zeitliche Verlauf der beobachteten Effekte ist unregelmäßig und im Einzelfall schwer interpretierbar. Inwieweit hierbei adaptive oder kompensatorische Effekte von Bedeutung sind, kann aufgrund der vorliegenden Befunde nicht ermittelt werden. Anhaltspunkte für additive oder synergistische sowie für antagonistische Kombinationswirkungen lassen sich aus den vorliegenden Befunden ebenfalls nicht ermitteln.

Zu der statistischen Berechnung ist zu bemerken, daß mit der mehrfachen Varianzanalyse und dem Students

t-Test gängige Auswertungsverfahren gewählt wurden. Dabei gingen alle Tiere, sofern es sich nicht statistisch gesehen um Ausreißer handelte, mit in die Analyse ein.
Infektionsresistenz ist aber ein Mechanismus, der multifaktoriell beeinflußt sein kann, der von daher nicht nach dem Alles- oder Nichtsprinzip reagiert und interindividuelle Unterschiede aufweist. Aus diesen Gründen zeigen die Tiere der einzelnen Schadstoffgruppen z.T. erhebliche Reaktionsunterschiede, die sich statistisch in den großen Vertrauensbereichen ausdrücken.
In medizinischen Veröffentlichungen über Untersuchungen an Patientenkollektiven werden üblicherweise Daten (wie z.B. über Krankheitserscheinungen) in prozentualen Anteilen an der ganzen Untersuchungsgruppe angegeben.
Wenn man dieses Vorgehen auf Tierversuche übertragen würde, so könnte man beispielsweise einen Normbereich definieren, wie Mittelwert der zugehörigen Kontrolle $\pm$ 2 s und die ermittelten Werte jedes einzelnen Tieres diesem Bereich zuordnen.
Als Beispiel sei auf Tab. 4 hingewiesen:
statistisch ergab sich mit dem t-Test ein signifikanter Anstieg der Bakterienanzahl nach vierwöchiger Exposition von SO_2 bzw. NO_2. Aus Kurve und Berechnung ist ein großer Vertrauensbereich ersichtlich:

SO_2	NO_2
$\bar{x}$ = 89,16	$\bar{x}$ = 82,49
Vertrauensbereich:	Vertrauensbereich:
von 74,74 bis 103,57	von 65,41 bis 99,56

Normbereich $\bar{x}$ Kontrolle $\pm$ 2s = 75,51

bei SO_2 liegen 6 von 7 Tieren außerhalb des Normbereiches;
bei NO_2 liegen 4 von 7 Tieren außerhalb des Normbereiches.

Das bedeutet, daß auch nach vierwöchiger Exposition noch nicht alle Tiere auf NO_2 reagiert haben.
Ein ähnlicher Effekt wird von Giordano (1972) beschrieben, der bei Ratten, die über 6 Wochen 6 ppm (11,5 mg/m³) NO_2 inhaliert hatten, feststellte, daß einige Tiere von der NO_2-Exposition nicht beeinflußt waren.

Mit einer solchen Auswertung ist es vielleicht leichter, Tendenzen zu erkennen, die sich mit den üblichen statistischen Verfahren aufgrund der Streuung nicht als signifikant sichern lassen.

V. Zusammenfassung

Weibliche NMRI-Mäuse inhalierten über eine, zwei, drei und vier Wochen an 5 Tagen der Woche $PbCl_2$ (8 Stunden pro Tag), NO_2 und SO_2 (24 Stunden pro Tag). Die Schadstoffe wurden einzeln und kombiniert verabreicht. Die mittlere Konzentration des $PbCl_2$-Aerosols betrug 18,38 µg Blei/m^3 Luft, was einer mittleren Bleikonzentration von 4,38 µg Blei/m^3 entsprach. Die mittlere Konzentration von NO_2 betrug 0,3 mg/m^3 (0,156 ppm). Die mittlere Konzentration von SO_2 betrug ebenfalls 0,3 mg/m^3 (0,112 ppm). Die Inhalation der Schadstoffe erfolgte in folgenden Kombinationen: $PbCl_2$, SO_2, NO_2, $NO_2 + SO_2$, $PbCl_2 + SO_2$, $PbCl_2 + NO_2$, $PbCl_2 + SO_2 + NO_2$.
Nach ein-, zwei-, drei- und vierwöchiger Schadstoffexposition inhalierten jeweils 8 Tiere pro Gruppe ein durch Zerstäubung hergestelltes Aerosol apathogener, FITC-markierter Bakterien (Serracia marcescens). Die Lungen der Tiere wurden mikroskopisch auf folgende Parameter untersucht:

- Zahl der freien fluoreszierenden Bakterien im Lungengewebe
- Zahl der phagozytierenden Alveolarmakrophagen
- Zahl der nicht phagozytierenden Alveolarmakrophagen.

Es ergaben sich folgende Befunde:

1. Durch Inhalation von SO_2, NO_2 und $PbCl_2$, einzeln oder in verschiedenen Kombinationen, und in Konzentrationen, die größenordnungsmäßig realen Bedingungen in der Umwelt oder am Arbeitsplatz

entsprechen, wird eine Verschlechterung der Lungenreinigung bzw. der Elimination inhalierter Bakterien induziert.

2. Die Zahl der phagozytierenden Alveolarmakrophagen ist in der Regel vermindert, insbesondere bei Einwirkung von $PbCl_2$, allein oder in Kombination mit SO_2 und NO_2.

3. Bei den nicht phagozytierenden Alveolarmakrophagen ergaben sich insgesamt keine oder nur geringe Mittelwertsunterschiede zwischen exponierten Tieren und Kontrolltieren.

4. Der zeitliche Verlauf der untersuchten Effekte nach ein-, zwei-, drei- und vierwöchiger Schadstoffexposition ist uneinheitlich und läßt keine schlüssige Interpretation zu.

5. Für synergistische und antagonistische Kombinationswirkungen der untersuchten Schadstoffe ergaben sich aufgrund der vorliegenden Untersuchungsergebnisse keine Anhaltspunkte.

VI. Literaturverzeichnis

AMDUR, M.O.:
The Respiratory Response of Guinea Pigs to Sulfuric Acid Mist.
Arch. of Industr. Health 18 (1958) 407 - 414

AMDUR, M.O.; UNDERHILL, D.:
The Effect of Various Aerosols on the Response of Guinea Pigs to Sulfur Dioxide.
Arch. Environ. Health 16 (1968) 460 - 468

BECK, E.G.; N. MANOJLOVIC; A.B. FISCHER:
Die Zytotoxizität von Blei
In: Tagungsberichte Internationales Symposium "Die gesundheitlichen Aspekte der Umweltverschmutzung durch Blei", Amsterdam 2.-6.10.1972. Luxembourg: Commission of the European Communities, Directorate General for Dissemination of Knowledge (CID) 1973, 451 - 462

BINGHAM, E.; E.A. PFITZER; W. BARKLEY; E.P. RADFORD:
Alveolar Macrophages: Reduced Number in Rats after Prolonged Inhalation of Lead Sesquioxide.
Science 162 (1968) 1297 - 1299

BINGHAM, E.; W. BARKLEY; M. ZERWAS; K. STEMMER; P. TAYLOR:
Responses of Alvelar Macrophages to Metals
Arch. Environ. Health 25 (1972) 406 - 414

BLAIR, W.H.; M.C. HENRY; R. EHRLICH:
Chronic Toxicity of Nitrogene Dioxide. II. Effect on the Histopathology of the Lung Tissue
Arch. Environ. Health 18 (1969) 186 - 192

BOWDEN, D.H.; E. DAVIES; J.P. WYATT:
Cytodynamics of Pulmonary Alveolar Cells in the Mouse
Arch. Path. 86 (1968) 667 - 670

BOWDEN, D.H.:
The Alveolar Macrophage
Current Topics in Pathology 55
Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York 1971

BRUCH, J.; A. BROCKHAUS; W. DEHNEN:
Elektronenmikroskopische Beobachtungen an Rattenlungen nach Exposition mit partikelförmigem Blei
In: Die gesundheitlichen Aspekte der Umweltverschmutzung durch Blei. Tagungsberichte Internationales Symposion,
Amsterdam, October 2-6, 1972. -Luxembourg: Centre for Information and Documentation-CID 1973, 221 - 230

COFFIN, D.L.:
Interaction of Infectious Disease and Air Pollutants: Influence of "Tolerance".
Environ. Factors Re. Dis. (1972) 151 - 173

COFFIN, D.L.; J.H. KNELSON:
Acid Precipitation: Effects of Sulfur Dioxide and Sulfate Aerosol Particles on Human Health.
Ambio. 5 (1976) 239 - 242

DANNENBERG, A.M. Jr.:
Influence of Environmental Factors on the Respiratory Tract - Summary and Perspectives. J. of the Reticuloendothelial Society 22, No. 3 (1977)

EDER, M.; GEDIGK:
Lehrbuch der ALLGEMEINEN PATHOLOGIE und der PATHOLOGISCHEN ANATOMIE
Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York, 1975, S. 179 - 204 und 587 - 642

EHRLICH, R.:
Effect of Nitrogene Dioxide on Resistance to Respiratory Infection.
Bacteriological Reviews 30 (1966) 604 - 614

EHRLICH, R.; M.C. HENRY:
Chronic Toxicity of Nitrogen Dioxide I. Effect on Resistance to Bacterial Pneumonia.
Arch. Environ. Health 17 (1968) 860 - 865

EHRLICH, R.; J.C. FINDLAY; J.D. FENTERS; D.E. GARDNER:
Health Effects of Short-Term Inhalation of Nitrogen Dioxide and Ozon Mixtures.
Environ. Research 14 (1977) 223 - 231

FAIRCHILD, G.A.:
Effects of Ozone and Sulfur Dioxide on Virus Growth in Mice.
Arch. Environ. Health 32 (1977) 28 - 33

FOORD, N.; A. BLACK; M. WALSH:
Regional Deposition of 2,5 to 7,5 µm Diameter Inhaled Particles in Healthy Male Non-Smokers. Publication No. R8553. Atomic Energy Research Establishment, Harwell, England, 1976

GONONG, W.F.:
Lehrbuch der Medizinischen Physiologie
Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York
1974, S. 580 ff.

GARDNER, D.E.; R.S. HOLZMAN; D.L. COFFIN:
Effects of Nitrogen Dioxide on Pulmonary Cell Population
Journal of Bacteriology 98 No. 3 (1969)
1041 - 1043

GIORDANO, A.M.; P.E. MORROW:
Chronic Low-Level Nitrogen Dioxide Exposure and Mucociliary Clearance.
Arch. Environ. Health 25 (1972) 443 - 449

GOLDSTEIN, E.; C. EAGLE; P.D. HOEPRICH:
Effect of Nitrogen Dioxide on Pulmonary Defense Mechanisms.
Arch. Environ. Health 26 (1973) 202 - 204

GOLDSTEIN, E.; W. LIPPERT; D. WARSHAUER:
Pulmonary Alveolar Macrophage: Defender Against Bacterial Infection of the Lung.
J. of Clinical Investigation 54 (1974)
519 - 528

GREEN, G.M.; E. KASS:
The Role of the Alveolar Macrophage in the Clearance of Bacteria from the Lung.
J. of Experimental Medecine 119 (1964) 167 - 175

GREEN, G.M.; E.H. KASS:
Factors Influencing the Clearance of Bacteria by the Lung.
Journal of Clinical Investigation 43 No. 4 (1964) 769 - 776

GREEN, G.M.; E.H. KASS:
Mechanisms of Resistance to Bacterial Infection in the Lung. In: Inhaled Particles and Vapours II. Proc. Internat. Symposium Organized by the British Occupational Hygiene Society at Cambridge. 28. Sept. - 1. Oct. 1965,
Ed.: C.N. DAVIS
Pergamon Press, Oxford, London 1967

GROSS, R.; P. SCHÖLMERICH:
Lehrbuch der Inneren Medizin
F.K. Schattauer Verlag Stuttgart-New York 1977
S. 435 - 447 und 1122

HOLMA, B.; M. LINDEGREN; J. MØRKHOLDT/ANDERSEN:
pH Effects on Ciliomotility and Morphology of Respiratory Mucosa.
Arch. Environ. Health 32 (1977) 216 - 226

IMMISSIONSSCHUTZRECHT BD. I
BOISSEREE, K.; F. OELS; K. HANSMANN; A. SCHMITT
Verlag Reckinger & Co., Siegburg; 3. Auflage

KIM, M.; E. GOLDSTEIN; J.P. LEWIS; W. LIPPERT; D. WARSHAUER:
Murine Pulmonary Alveolar Macrophages: Rates of Bacterial Ingestion, Inactivation, and Destruction.
Journal Infectious Diseases 133 No. 3 (1976) 310 - 319

KITZROW, D.; H. BLOBEL:
Einfluß bakterieller Oberflächenstrukturen auf Immunadhärenz, Chemotaxis und Phagozytose.
Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 234 (1976) 129 - 135

KNAUSS, H.D.; W.E. ROBINSON:
Cell vs. Noncell Airway Temporal Response in Rats Exposed to Sulfur Dioxide.
Arch. Environ. Health 31 (1976) 241 - 247

KOSMIDER, St.; K. LUDYGA; A. MISTIEWICZ; M. DROZDZ; J. SAGAN:
Experimentelle und klinische Untersuchungen über emphysembildende Wirkung der Stickstoffoxyde.
Zbl. Arbeitsmedizin (1972) 362 - 368

LAHMANN, E.:
Eigenschaften der Luft
In: Handbuch der Lebensmittelchemie VIII/2
Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York 1969, 1274 - 1358

LEONHARDT, H.:
Histologie, Zytologie und Mikroanatomie des Menschen
G. Thieme Verlag Stuttgart 4. Aufl. (1974) 323 - 335

LUFTHYGIENE und SILIKOSEFORSCHUNG 1975 Bd. 8
Verlag W. Girardet, Essen

MOESCHLIN, S.:
Klinik und Therapie der Vergiftungen
G. Thieme Verlag Stuttgart (1959) 161 ff.

MORGAN, W.K.C.:
The Deposition and Clearance of Dust from the Lungs.
In: Occupational Lung Diseases, Philadelphia (1975) 20ff.

OREN, R.; A. FARNHAM; K. SAITO; E. MILOFSKY; M.L. KARNOVSKY:
Metabolic Patterns in Three Types of Phagocyting Cells
Journal Cell Biol. 17 (1968) 487 - 501

PSCHYREMBEL, W.:
Klinisches Wörterbuch
W. de Gruyter Berlin New York 252. Auflage 1975

SCHLIPKÖTER, H.W.:
Epidemiological Investigations and Research Related to Nitrogen Dioxide.
In: Comprehensive Report International Lecture Meeting on Environmental Quality Standards For Nitrogen Dioxide
Industrial Pollution Controll Association of Japan Shuwa Toranomon No. 3 Bldg., 18. Shiba-Nishikubosakuragawa-cho Minato-ku, Tokyo 105 (1975)

SCHLIPKÖTER, H.W.; G.H.M. KRAUSE; R. STILLER-WINKLER; A. BROCKHAUS:
Die Beeinflussung der Infektionsresistenz durch staub- und gasförmige Luftverunreinigungen.
Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. B 165 (1977) 251 - 259

SCHLIPKÖTER, H.W.; L. FRIELER:
Der Einfluß kurzzeitiger Bleiexposition auf die Bakterienclearance der Lunge.
Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. B 168 (1979) 256 - 265

SHY, C.M.; J.P. CREASON; M.E. PEARLMAN; K.E. McCLAIN; F.B. BENSON; M.M. YOUNG:
The Chattanooga School Children Study: Effects of Community Exposure to Nitrogen Dioxide.
III. Incidence of Acute Respiratory Illness.
Journal of the Air Pollution Control Association 20 No. 9 (1970) 582 - 588

STEPHENS, R.J.; G. FREEMAN; M.J. EVANS:
Early Response of Lungs to Low-Levels of Nitrogen Dioxide.
Arch. Environ. Health 24 (1972) 160 - 180

THOMAS, H.V.:
Dissertation Univers. of California 1968
zitiert nach St. Kosmider: Experimentelle und klinische Untersuchungen über emphysembildende Wirkung der Stickstoffoxide.
Zbl. Arbeitsmed. 12 (1972)

VDI-Richtlinien: Maximale Immisionswerte
Blei und anorganische Bleiverbindungen (als Pb berechnet); Schwefeldioxid; Stickstoffdioxid
Hrsg: BDI-Kommission Reinhaltung der Luft
VDI 2310 (1974)

WAKABAYASHI, M.; B.G. BANG; F.B. BANG:
Mucociliary Transport in Chickens Infected with Newcastle Disease Virus and Exposed to Sulfur Dioxide.
Arch. Environ. Health 32 (1977) 101 - 108

WHO-BERICHT vom 7. 3. 1975:
Control of Environmental Pollution and Hazards
30 - 45

WICHERT, P.v.:
Das oberflächenaktive System der Lunge.
Med. Welt 22/43 (1971) 1694 - 1696

WIESMANN, E.:
Medizinische Mikrobiologie
G. Thieme Verlag Stuttgart 3. Aufl. (1974)
20ff.

WITSCHI, H.P.:
Models and Tools to Study the Biochemistry of Toxic Lung Damage.
Reviews on Environmental Health II No. 2
(1975) 117 - 156

WOLFF, R.K.; M. DOLOVICH; C.M. ROSSMAN; M.T. NEWHOUSE:
Sulfur Dioxide and Tracheobronchial Clearance in Man.
Arch. Environ. Health 30 (1975) 521 - 527

Herrn Prof. Dr. med. H.-W. Schlipköter danken wir für die Überlassung des Themas und seine wertvollen Anregungen und Ratschläge.

Herrn Dr. Ewers danken wir für seine stete Bereitschaft zu kritischer Diskussion.

Herrn Hardenacke danken wir für die sorgfältige Durchführung der Schadstoffinhalationen.

Lebenslauf

Am 30. Dezember 1954 wurde ich als Tochter des Fabrikantenehepaars Heinrich und Helma Dux in Warburg/Westf. geboren.

Von 1960 bis 1964 ging ich zur Katholischen Volksschule Warburg-Altstadt. 1964 wechselte ich zum Neusprachlichen Mädchengymnasium Warburg-Hüffert, das ich bis zu meinem Abitur im Mai 1973 besuchte.

Zum Sommersemester 1974 nahm ich mein Studium der Medizin an der Universität Düsseldorf auf, wo ich 1976 das Physikum und 1980 das zweite Staatsexamen bestand.

Erika Dux

Lebenslauf

14. 9. 1952	geboren in Papenburg als Sohn des Maurermeisters Anton Stell und dessen Ehefrau Katharina, geb. Schulte
1959 - 1968	Besuch der Volksschule in Papenburg
1968 - 1971	Lehrzeit im Maurerhandwerk; Abschluß: Gesellenprüfung
1971	Besuch des Erzbischöflichen Abendgymnasiums in Neuss
1971 - 1973	Besuch des Friedrich-Spee-Kollegs in Neuss; Abschluß: Abitur
seit SS 1974	immatrikuliert an der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf
Aug. 1976	Ärztliche Vorprüfung
Aug. 1977	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
Aug. 1979	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

Hermann-Josef Stell